

Berichte aus der

GESELLSCHAFT

FÜR STRAHLENFORSCHUNG M.B.H.

MÜNCHEN

INSTITUT FÜR BIOLOGIE

STATIONÄRER NEGATIVER WIDERSTAND UND
VERSTÄRKERFUNKTION DES RANVIERSchen SCHNÜRRINGS

H. Müller-Mohnssen

GSF-Bericht B 137

1964

NEUHERBERG BEI MÜNCHEN

INGOLSTÄDTER LANDSTR. 1

**Als Manuskript vervielfältigt.
Für diesen Bericht behalten wir uns alle Rechte vor.
Gesellschaft für Strahlenforschung mbH.**

München

Gesellschaft für Strahlenforschung mbH. München
Institut für Biologie

STATIONÄRER NEGATIVER WIDERSTAND
UND VERSTÄRKERFUNKTION DES RANVIERSchen SCHNÜRRINGS

von
H. Müller-Mohnssen

Diese Arbeit wurde der Universität München 1967 als Habilitations-
schrift vorgelegt.

GSF-Bericht B 137



Digitized by the Internet Archive
in 2026



https://archive.org/details/IA41554020_0017

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Mathematische Symbole und Abkürzungen	V
I. Einleitung und Fragestellung	1
A. Der Schnürring als digitaler Leistungsverstärker	3
B. Die Untersuchung der erregbaren Membran auf ihre Verstärkerfunktion	6
C. Der funktionelle Aspekt der Membranverstärkung	9
D. Die erregbare Membran des Schnürrings betrachtet als elektrischer Zweipol	13
E. Die für Verstärkerfunktion und regenerative Spannungsände- rungen notwendigen Eigenschaften eines Zweipols	15
II. Methode	20
A. Einige ältere Messungen von Kennlinien erregbarer Membranen	20
B. Vorbemerkung zur Technik der "stationär eingeprägten Spannung"	22
1. Prinzip der Messung einer stationären fallenden Charakteristik	22
2. Die Arbeitsgerade der Meßanordnung	25
3. Bedingungen für die Messung des stationären negativen Widerstandes an der Membran des Schnürrings	28
C. Ausführung der Messungen	31
1. Das Präparat; Montierung und elektrische Kontaktierung ..	31
2. Lösungen	31
3. Meßschaltung	32
D. Meßkritik	36

	Seite
III. Ergebnisse	42
1. Teil der Ergebnisse	
Das stationäre Strom-Spannungsverhalten des Schnürrings	42
A. Vorbemerkungen: Begriff der "stationären" Messung	42
B. Die Einstellungsgeschwindigkeit des stationären Arbeitspunktes der Membran bei einer punktförmigen Abtastung der Kennlinie	43
C. Abhängigkeit des Kurvenverlaufs von Abtastgeschwindigkeit und -richtung (Kontinuierliche Registrierung)	45
D. Die stationäre Kennlinie und ihre Abhängigkeit von der $[K^+]_a$.	49
E. Detailbeschreibung der Kennlinien	51
1. Die Substitutionscharakteristik	51
a) Der hochohmige Ast R_I^0	52
b) Der niederohmige Ast R_{II}^0	53
c) Der Widerstand im Übergangsbereich R_{Tr}^0	56
d) Arbeitsformel für die Berechnung des repräsentativen negativen Widerstandes	58
2. Die gemessene Kennlinie	60
a) Unterschiede gegenüber der Substitutionscharakteristik .	60
b) Arbeitsformel zur Beschreibung der gemessenen Kennlinie	61
3. Die Hysterese	64
a) Die Ausdehnung der Hysterese in Spannungsrichtung . . .	65
b) Die Form der Hysterese	67
F. Die Depolarisation als Bedingung für den Nachweis des stationären negativen Widerstandes	69
G. Die stationäre Kennlinie während der Rb^+ -Depolarisation . . .	71
H. Die stationäre Kennlinie während der Veratridin-Depolarisation	71
1. Die "Na-Kennlinie"	71
2. Substitution des Na^+ durch andere Ionen	79

2. Teil der Ergebnisse	
Beziehungen zwischen dem stationären und dynamischen Strom-Spannungsverhalten des Schnürrings	81
A. Einleitung und Fragestellung	81
B. Methode und theoretische Vorbemerkungen	84
1. Apparatur zur Registrierung der stationären Kennlinie und an beliebigen Arbeitspunkten intermittierend ausgelöster AP	84
2. Ansätze einer quantitativen Beschreibung des AP aufgrund der stationären fallenden Charakteristik	87
3. Die Verstärkereigenschaften des Schnürrings	92
C. Registrierung des stationären und dynamischen Verhaltens im gleichen Meßgang	98
1. Das regenerative Verhalten des Schnürrings in Abhängigkeit vom Arbeitsbereich	98
2. Schwellenspannungen und Amplitude des AP; Beziehungen zu der während K^+ -Depolarisation meßbaren stationären Kennlinie	102
a) Unterschwelliges Erregungspotential (EP)	103
b) Depolarisationsschwelle, Schwellenspannung	107
c) Der Schwellenstrom; Eigenschaften des Schwellenreizes	109
d) Die Amplitude des " K^+ -AP"	112
e) Die Repolarisationsschwelle	118
3. Die Ortskurve des Aktionsimpulses im Strom-Spannungsdiagramm	123
4. Schwellen- und Spitzenspannung des AP. Vergleich mit den korrespondierenden Spannungswerten der stationären Na^+ -Kennlinie	128
D. Stationäre K^+ -Kennlinie und AP bei normaler $[Na^+]_a$; Vergleich getrennter Registrierungen	130
1. Die Abhängigkeit des regenerativen Verhaltens vom Betrag des stationären negativen Widerstandes im Übergangsbereich	131

	Seite
2. Depolarisations- und Repolarisationsschwelle, sowie Amplitude des AP bei Veränderungen von V_{Imin} und V_{Imax} der stationären Kennlinie	134
IV. Diskussion der Ergebnisse	138
Wiederholung von Fragestellung und Expose	138
A. Die stationäre Strom-Spannungskennlinie des Schnürrings ...	141
1. Die stationäre fallende Charakteristik und deren Nachweisbarkeit	141
2. Läßt sich die stationäre fallende Charakteristik durch die Gleichungen der Ionentheorie quantitativ oder qualitativ voraussagen.	145
3. Die physikalische Interpretation der Hysterese aus zeitabhängigen Eigenschaften der Membran	151
B. Qualitativer Nachweis der Zusammenhänge zwischen Aktionspotential und stationärer Kennlinie	153
C. Vergleich zwischen stationärem Strom-Spannungsverhalten und dynamisch ablaufender Funktion der Membran bei veränderten extracellulären Bedingungen	156
D. Die Entwicklung einer quantitativen Beschreibung des AP aufgrund der stationären Membrankennlinie	158
E. Die von der zeitlichen Ableitung der Spannung abhängigen Membraneigenschaften und ihre Beeinflussung durch Pharmaca	161
F. Bisherige Kenntnisse der Membranfunktion als Grundlage für die Untersuchung des Membranmechanismus	163
V. Zusammenfassung	166
VI. Literaturverzeichnis	168

Dankadresse

Mathematische Symbole und Abkürzungen

Ströme

I	Membranstrom in A (gewöhnlich in 10^{-9} A, gemessene und unkorrigierte Werte).
$I_{\min}, I_{\max}$	Stromwerte an den Extrema der fallenden Charakteristik.
$I_{\min}^0, I_{\max}^0$	Stromwerte an den Extrema der linearen Substitutionscharakteristik.
I_P	Membranstrom in einem bestimmten Arbeitspunkt P.
$I(t)$	Zeitverlauf für eine zeitliche Änderung des Stromes.
J	Membranstromdichte in Acm^{-2} .

Spannungen

V	Membranspannung; in V (üblicherweise in mV) Abweichung vom Ruhepotential (Spannung N_1 gegenüber N_2).
V_{mo}	Ruhepotential (Nullpunkt der V-Skala $V=0$).
V_m	Membranpotential; Abweichung vom Ruhepotential bei $I=0$; wenn $V = V_m$, dann ist $I = 0$.
V_{mG}	Scheinbare Gegenspannung. Differenz zwischen dem Spannungswert des Abszissenschnittpunktes des verlängerten R_I und V_m .
$V_{I\min}, V_{I\max}$	Spannungswerte für $I_{\min}$ und $I_{\max}$ der fallenden Charakteristik.
ΔV_{Tr}	Übergangsbereich ($V_{I\max} - V_{I\min}$).
V_P	Membranspannung in einem bestimmten Arbeitspunkt.
V_K, V_{Na} etc.	Partielle NERNST-Potentiale für K^+ , Na^+ etc.
V_{N1}, V_{N3}	Membranspannung der Schnürringe N_1, N_3 .
V_I, V_{II}, V_{Tr}	Spannungswerte im Bereich I, II, Tr.
$V(t)$	Zeitverlauf für zeitliche Änderungen der Spannung.
U_1	Spannung der Meßspannungsquelle (Sollspannung).
U	Spannung am Verstärkerausgang.
V_{Tr}	Spannungswert, in dem die Stufenfunktion (siehe Gl. 17), mit deren Hilfe die Kennlinie dargestellt wird, den Wert $(R_I + R_{II})/2$ annimmt (S. 62).

Widerstände

R (auch R_S)	Membranwiderstand in Ω (üblicherweise in $M\Omega$) Steigung der Tangente an der Kennlinie im Arbeitspunkt.
G	Membranleitfähigkeit $1/R$
R_I, R_{II}, R_{Tr}	Membranwiderstand im Kennlinienbereich I, II, Tr; d.h. Widerstand des hochohmhigen, niederohmhigen Astes und des Übergangsstes. Wird auch zur Kennzeichnung der Äste selbst gebraucht. Dann bedeutet R_I : hochohmi- ger Ast, R_{II} : niederohmiger Ast und R_{Tr} : Übergangs- ast.
R_P	Membranwiderstand in einem bestimmten Arbeitspunkt P.
R_S	Membranwiderstand des Schnürrings N_2 .
R_{N1}, R_{N3}	Membranwiderstand der Nachbarschnürringe N_1, N_3 .
r	Differentieller Widerstand (dV/dI) der Membran.
R_A	Axonwiderstand
R_n	Widerstand des Nebenschlusses über die Faseroberfläche im Luftspalt.
R_B	Bahnwiderstand der Messeinrichtung.
R_L	Lastwiderstand; Bahnwiderstand des Präparates ($R_A + R_{N3}, R_A + R_{N1}$)
R_B^*	Bahnwiderstand des gesamten Regelkreises ($R_B + R_L$).
$R_{i\text{eff}}$	Scheinbarer innerer Widerstand der Meßspannung an der Membran $R_{i\text{eff}} = R_B^*/\mu$

Kapazitäten

C	Membrankapazität in F (üblicherweise in pF).
C_A, C_n	Kapazitäten des Präparates.

Verschiedene Symbole

I, II, Tr	Abschnitte der Kennlinie; Spannungsbereich des hoch- ohmhigen, niederohmhigen Astes und des Übergangsstes.
P	Arbeitspunkt; Schnittpunkt der Arbeitsgeraden der Meß- einrichtung mit der stationären Kennlinie.
D	Gleichrichterwirkung der Membran $D = R_I/R_{II}$.
μ	Verstärkungsfaktor des operativen Verstärkers A.
μ_I, μ_V, μ_L	Strom-, Spannungs- und Leistungsverstärkung an der Membran.

τ

Q

F

O

$[X^+]_i, [X^+]_a$

AP

EP

RP

Zeitkonstante ($R \cdot C$).

Ladung $\int I \cdot dt$.

Fläche der erregbaren Membran.

Hysteresefläche.

intra- bzw. extracelluläre Kationenaktivität.

Aktionspotential.

Unterschwelliges Erregungspotential.

Reaktionspotential.

STATIONÄRER NEGATIVER WIDERSTAND UND VERSTÄRKERFUNKTION DES RANVIER'schen SCHNÜRRINGS

I. Einleitung und Fragestellung

Die markhaltige Nervenfasern ist nur im Bereich der RANVIER'schen Schnürringe erregbar, während die Internodien die Rolle eines passiven Kabels zu spielen scheinen. So breitet sich die Erregungswelle räumlich und zeitlich in Sprüngen über die markhaltige Nervenfasern aus, d.h. die Erregungsleitung verläuft saltatorisch (STÄMPFLI, 1952, 1954). Bei rein passiver Fortleitung wäre der von der Nervenzelle abgegebene elektrische Impuls durch Dämpfung an Ohm'schen Leitungswiderständen und Querkapazitäten bereits nach doppelter Schnürrings-Distanz soweit abgeschwächt, daß er für die Schwel-
lenerregung des folgenden Schnürrings nicht mehr ausreichen würde: die Impulsfortleitung wäre bereits nach 4-6 mm blockiert. Tatsache ist aber, daß die Strom- und Spannungs-Amplituden und folglich auch die Energie des Nervenimpulses - unabhängig von der Länge der Leitungsstrecke - am "Ausgang" der Nervenfasern, z.B. an der motorischen Endplatte, noch ebenso groß sind wie am "Eingang" z.B. an einer motorischen Ganglienzelle. Grund dafür ist, daß der Nervenimpuls an den Schnürringen jeweils auf die volle Höhe nachverstärkt wird.

Diese Verstärkertätigkeit ist Gegenstand der vorliegenden Untersuchungen. Einleitend wird in dieser Arbeit dargestellt, daß jeder Verstärker ganz bestimmte stationäre elektrische Eigenschaften - im Falle des Schnürrings ein für dessen Struktur als Verstärker kennzeichnendes stationäres Stromspannungsverhalten - besitzen muß, ohne die die Verstärkertätigkeit - gewöhnlich ein dynamisch ablaufender Vorgang - nicht denkbar ist. Wieweit diese stationären Eigenschaften im speziellen Fall auch stationär meßbar sind, ist eine andere Frage. Der spezielle Verstärkertyp des Schnürrings wird aufgrund der bisherigen Kenntnis dynamischer Messungen identifiziert und daraus auf die charakteristischen stationären Eigenschaften geschlossen, die für das spezielle dynamische Verhalten vorausgesetzt werden müssen. Im ersten experimentellen Teil wird das stationäre Strom-Spannungsverhalten des Schnürrings anhand von Messergebnissen eingehend beschrieben. Im zweiten Teil versuchen wir experimentell den Nachweis zu führen,

daß tatsächlich ein gesetzmäßiger Zusammenhang zwischen stationären Eigenschaften und dem dynamisch ablaufenden Verstärkungsvorgang des Schnürrings besteht.

A. Der Schnürring als digitaler Leistungsverstärker

Ein System, dessen Ausgangssignal eine größere elektrische Leistung enthalten kann als die aufgewendete Steuerleistung, bezeichnen wir als Verstärker. Unter Verstärkung (μ) verstehen wir also prinzipiell nur Leistungsverstärkung (μ_L). Da sich die Leistung multiplikativ aus Strom (I) und Spannung (V) unter Berücksichtigung der Phasenlage zusammensetzt, definieren wir

$$(1) \quad \mu_L = \frac{V_a \cdot I_a}{V_e \cdot I_e} > 1$$

(a: Ausgangssignal; e: Eingangssignal). Wir können unterscheiden zwischen Stromverstärkung

$$(2) \quad \mu_I = \frac{I_a}{I_e} > 1$$

und Spannungsverstärkung

$$(3) \quad \mu_V = \frac{V_a}{V_e} > 1$$

Von Verstärkung sprechen wir nur dann, wenn das Produkt aus beiden

$$(1a) \quad \mu_L = \mu_V \cdot \mu_I > 1.$$

Da der Schnürring die im vorgeschalteten Internodium verbrauchte Energie nachliefert, da also

$$(I \cdot V)_{\text{Ausgangssignal}} > (I \cdot V)_{\text{Eingangssignal}},$$

ist er als Verstärker zu betrachten. In einem späteren Zusammenhang (Einführung zum 2. Teil der Ergebnisse) wird dargestellt, daß der Verstärkungsfaktor für die Spannungsverstärkung $\mu_V = 1$, während der Verstärkungsfaktor für die Stromverstärkung $\mu_I > 1$, die Leistungsverstärkung am Schnürring also durch Stromverstärkung zustandekommt.

Je nach Art der Verknüpfung von Ausgangs- und Eingangssignal, unterscheiden wir außerdem Analog- und Digitalverstärker. Beim Analogverstärker ändert sich das Ausgangssignal stetig (und deshalb kontinuierlich) mit dem Eingangssignal. Beim Digitalverstärker ist Form und Amplitude des Ausgangs-

signals in bestimmten Grenzen unabhängig von Form und Amplitude des Eingangssignals. Das Ausgangssignal wird nur dann abgegeben, wenn das Eingangssignal eine bestimmte vorgegebene Schwellengröße überschreitet. Das Schwellenverhalten entsteht ganz allgemein durch das Anwachsen eines typischen Parameters des Eingangssignals über den vorgegebenen Schwellenwert; im allgemeinen ist es die Spannung, aber auch der Strom, die Ladungsmenge und die Anstiegssteilheit des Impulses zählen zu diesen Parametern.

Die Frage, zu welcher Verstärker-Gruppe der Schnürring gehört, wird am einfachsten durch die Beschreibung des Verstärkervorgangs am Schnürring beantwortet. Wird dem Ruhepotential des Schnürrings ein natürlicher Nervenimpuls oder ein künstlicher Reizimpuls mit ausreichender Anstiegssteilheit von außen überlagert, so erfolgt - konstante Anstiegssteilheit vorausgesetzt - bei einer ganz bestimmten Amplitude des Reizes (Schwellenreiz) ein Umschlag des Potentials an der erregbaren Membran auf einen anderen Wert. Nach einer bestimmten Zeit von der Größenordnung 1 msec springt dann das Potential von selbst wieder auf den Wert des Ruhepotentials zurück. Die Amplitude dieser metastabilen Abweichung vom Ruhepotential, d.h. des Aktionspotentials (AP), ist oberhalb der Reizschwelle unabhängig von der Reizamplitude. (In der Elektronik wird eine hierzu analoge Funktion, z.B. durch Univibratoren, Monoflop, realisiert.)

Der Eingangsimpuls - im allgemeinen ein am vorgeschalteten Schnürring gebildetes Aktionspotential - ist nach Durchlaufen eines Internodiums nicht nur in seiner Amplitude, sondern vor allem in seinem zeitlichen Ablauf verändert. Da die Latenzzeit von der Anstiegssteilheit (dV/dt) des Eingangsimpulses abhängt, würde sich bei einer Veränderung der Anstiegssteilheit am Eingang auch der Impulsabstand der Ausgangsimpulse ändern. Die in der Nervenfasern fortgeleitete Information ist indessen gerade in der Intervallbreite zwischen 2 Impulsen enthalten. Und zwar wird die Informationsmenge, die in der Zeiteinheit mit der Intervallbreite übertragen werden kann, von der Genauigkeit ihrer Abgrenzung durch die Impulse bestimmt. Wir beobachten am Schnürring dementsprechend nicht nur den gleichbleibend steilen Anstieg (dV/dt), der eine genaue Intervallbegrenzung gewährleistet, sondern einen gleichbleibenden zeitlichen Ablauf des AP in allen Phasen. Der ankommende Reizimpuls wird am Schnürring nicht linear nachverstärkt, sondern löst hier die Neuentstehung eines Nervensignals, also eines nicht nur in der

Amplitude, sondern im zeitlichen Amplitudengradienten (dV/dt) unverzerrten Norm-Impulses aus.

Den Verstärkereigenschaften des Schnürrings ist im 2. Teil der Ergebnisse ein eigener Abschnitt gewidmet. Folgendes sei vorweggenommen. Der von der Nervenfaser pro Nervenimpuls gelieferte Energiebetrag

$$A_a = \int V_a \cdot I_a \, dt$$

ist eine charakteristische Größe der erregbaren Membran. Denn solange Amplitude und Dauer eines überschwelligen Reizes klein sind gegen Amplitude und Dauer des Aktionspotentials V_a , bleiben V_a und der Aktionsstrom I_a unabhängig vom Reiz. In diesem Fall kann man (entsprechend Gleichung 1) von Verstärkung sprechen, da dann die Energie des Reizsignals A_e kleiner ist als A_a , die Energie des Nervenimpulses. So ist natürlich keine effektive Verstärkung zu beobachten, wenn die Leistung des Reizimpulses gleichgroß oder größer wird als die des AP, ein Fall der indessen höchstens im Experiment, nicht aber während der normalen Erregungsleitung auftritt. Ebenso wie bei jedem anderen Digitalverstärker ist auch die Verstärkerfunktion des Schnürrings im wesentlichen durch die Ansprechschwelle und durch die Eigenschaften des Ausgangsimpulses gekennzeichnet. Insbesondere ein von der Eingangsgröße unabhängiger Verstärkungsfaktor, wie beim linearen Analogverstärker, kann dagegen nicht angegeben werden.

B. Die Untersuchung der erregbaren Membran auf ihre Verstärkerfunktion

Diese mit Impulsformung verbundene Verstärkertätigkeit, die die Funktion des Schnürrings von der komplexeren Funktion der Nerven- oder Sinneszellen, sowie von der einfacheren Kabelfunktion des Internodiums unterscheidet, ist nicht nur Gegenstand der vorliegenden Arbeit, sondern letzten Endes jeder elektrophysiologischen Untersuchung der Membranfunktion einzelner Nervenfasern überhaupt, wenn auch nur selten ausdrücklich darauf hingewiesen wird.

Die zur Analyse der Verstärkertätigkeit notwendigen Untersuchungsverfahren setzen nicht nur eine präparatorische und meßtechnische Isolierung des einzelnen biologischen Verstärkers voraus, sondern - da jeder Verstärker selbst ein komplexes Gebilde ist - eine gedankliche Trennung der Funktionseinheiten, aus denen der Verstärker besteht.

Die historische Entwicklung der technischen Untersuchungsverfahren zeigt die Tendenz, bei gleichzeitiger Vervollkommnung der Präparations- und Meßtechnik von zusammengesetzten Systemen zu einfacheren Einheiten überzugehen (Gesamtnerven GALVANI 1792 → Nervenfasern → Einzelabschnitte von Nervenfasern, z.B. Schnürringen KATO 1934, TASAKI 1939, HUTTON-RUDOLPH 1944, STÄMPFLI 1946 → durchströmtes Riesenaxon HODGKIN, BAKER, SHAW 1960 → bimolekulare Lipoidmembran P.MÜLLER u.a. 1962). Ebenso wie wir ein zusammengesetztes anatomisches System durch Präparation in die funktionellen Einheiten aufgliedern, können wir die Funktion einer solchen Einheit wiederum analysieren, indem wir die physikalischen Parameter zu messen suchen, die ihr zugrunde liegen. Dazu sind getrennte, den einzelnen Parametern angepaßte Untersuchungsverfahren notwendig, die von getrennten Betrachtungsweisen (Aspekten) der Funktion ausgehen.

Jeder Verstärkungsvorgang kann physikalisch unter verschiedenen Aspekten betrachtet und untersucht werden. Zur Realisierung eines Verstärkers gehören 2 durchaus gleichberechtigte Voraussetzungen, nämlich 1. eine oder mehrere Energiequellen, die den Vorgang der Verstärkung energetisch ermöglichen und 2. ein Funktionsteil, d.h. ein Zwei- bzw. Mehrpol, der es kraft seiner Strom-Spannungs-Charakteristik bzw. seiner Vierpolparameter erlaubt, die bereitgestellte Energie in ein Ausgangssignal umzusetzen.

Die im gegenwärtigen Zeitpunkt praktisch wichtigen Aspekte für die elektrophysiologische Untersuchung des Membranmechanismus sind der energetische und der funktionelle. Der energetische Aspekt befaßt sich mit den Energiequellen des Verstärkers und der Art der Energielieferung. Der funktionelle Aspekt untersucht, auf welche Weise der Energiefluß aus diesen Ener-

giequellen durch das System derart gesteuert oder geschaltet wird, daß eine Verstärkung zustandekommt. In dem Ziel, den Steuermechanismus zu untersuchen, gleicht der funktionelle dem mechanistischen Aspekt. Er unterscheidet sich von diesem darin, daß er lediglich den Steuervorgang selbst und dessen physikalische Ursachen betrachtet, während der mechanistische einen Schritt weitergeht und die molekularen bzw. physikalisch-chemischen Vorgänge verfolgt.

Die Aufklärung des molekularen Mechanismus, der der Membranfunktion zugrunde liegt - ähnlich wie der quantenmechanische Tunneleffekt die Funktion von ESAKI- und Backward-Dioden bestimmt - ist letztlich das Ziel der gegenwärtigen Bemühungen um die Membran. Um die Gründe für die Selektivität der Ionenbeweglichkeiten und für die Abhängigkeit der Leitfähigkeiten von der Feldstärke an der Membran darzulegen, wäre eine direkte Untersuchung des Ladungstransportes durch die Membran bzw. der Wechselwirkung von Ladungsträgern und Membran in Abhängigkeit von der Feldstärke erforderlich, also mit elektrophysiologischen Methoden allein nicht möglich. Da sich der Mechanismus in der Größenordnung von Makromolekülen (170 Å, Dicke der Membran) abspielt, und zudem sehr empfindlich auf Veränderungen des Substrates anspricht, stößt eine experimentelle Untersuchung (z.B. durch physikalisch-chemische Methoden, Feinstrukturanalyse) auf große technische Schwierigkeiten. So ist der mechanistische Aspekt gegenwärtig in der Hauptsache Gegenstand theoretischer Prognostik.

Energetischer und funktioneller Aspekt unterscheiden sich voneinander etwa wie das Netzgerät bzw. die Batterien und der Steuerteil eines elektrischen Gerätes. Mit den gleichen elektrischen Energiequellen können die verschiedensten Funktionen durchgeführt werden; erst ein spezieller Steuerteil bestimmt, ob z.B. Schwingungen erzeugt oder ob verstärkt wird. Bei einem Verstärker bestimmt schließlich der Steuerteil, ob Spannung oder Strom, bzw. beides, und ob das Eingangssignal "reiz"-proportional oder digital verstärkt wird.

Den energetischen Aspekt - wenn wir dieses Bild auf die Membranverstärkung anwenden wollen - vertritt die Ionentheorie der Erregung. Ihr verdanken wir den jetzigen Stand unserer Kenntnisse über die elektrischen Energiequellen an der Membran. Wenig bekannt ist dagegen über den Steuermechanismus, der den Energiefluß aus den "Ionenbatterien" an der Membran derart steuert, daß ein überschwelliger Reiz beliebiger Amplitude und Form durch einen Normimpuls beantwortet wird.

Die Ionentheorie der Erregung (HODGKIN, HUXLEY und KATZ 1952) hat zwar einen Weg gefunden, den Verlauf des AP anhand von hypothetischen Zustandsänderungen der energieliefernden Membranbatterien mathematisch zu be-

schreiben. Doch lediglich die Stellung, die die Membranbatterien in dieser Beschreibung einnehmen, entspricht einem physikalischen Sachverhalt. Die fehlende Kenntnis des Steuermechanismus wird dagegen durch eine mathematische Beschreibung des Steuerverhaltens ersetzt, die laut Aussage der Autoren keine physikalische Interpretation - höchstens eine hypothetische - zuläßt.

Die Möglichkeit, das Steuerverhalten der Membran unabhängig von den Energiequellen zu betrachten, liegt den in dieser Arbeit dargestellten Experimenten als einheitliches Konzept zugrunde. Dies Konzept bezeichnen wir als funktionellen Aspekt. Die begriffliche Trennung: "funktioneller" und "energetischer" Aspekt haben wir für unsere Untersuchungen als Arbeitsprinzip eingeführt, um durch schärfere Einengung der Fragestellung einfachere experimentelle Ansätze und genauere Kenntnis speziell über die Steuerfunktion und deren Ursachen zu bekommen.

Da der funktionelle Aspekt unsere Arbeitsmethode bestimmt, ist zunächst dessen spezielle Definition für die Anwendung in der Elektrophysiologie zu formulieren. Anschließend werden die Konsequenzen dargestellt, die sich daraus für die experimentelle Untersuchung des Steuerverhaltens der erregbaren Membran ergeben.

C. Der funktionelle Aspekt der Membranverstärkung

Seitdem es offensichtlich ist, daß die Suche nach einem spezifischen Stoff oder einer spezifischen Kraft des Lebendigen nicht zum Ziele geführt hat, ist das Interesse der Biologie stärker auf die Struktur des Lebendigen gerichtet. Unter Struktur verstehen wir die Gesamtheit der Beziehungen innerhalb eines Systems, "die mit den Begriffen der Mathematik, also zahlenmäßig oder geometrisch beschreibbar sind" (A. MARCH 1960). Statt auf spezifische Stoffe bzw. Kräfte versucht die Biologie die Lebensvorgänge auf die Gesetzmäßigkeit zurückzuführen, nach denen die stofflichen Elemente im Organismus geordnet sind (Biochemie, Anatomie) bzw. auf die Verknüpfungsgesetze, die das Zusammenspiel der Kräfte im Organismus steuern (Physiologie). Während viele Vorgänge in der unbelebten Welt dem Entropie-Prinzip in direkt erkennbarer Weise folgen, indem sie die stofflichen und energetischen Ordnungszustände des Systems, an dem sie ablaufen, ausschließlich vermindern, ist es ein Merkmal vieler Lebensvorgänge, daß sie - allerdings auf Kosten einer starken Entropievermehrung in der Umgebung - lokalisiert höhere Ordnungszustände herbeiführen. Mit Ordnungszustand ist neben der Differenzierung stofflicher Art auch die Koordination dynamischer Abläufe gemeint, die gewöhnlich an stofflich organisierten Strukturen (Organe bzw. Organsysteme) ablaufen und als Funktion dieser Strukturen bezeichnet werden.

Der funktionelle Aspekt betrachtet ein biologisches System nur nach seiner Funktion und untersucht die Eigenschaften, die für die charakteristische Funktion des Systems verantwortlich sind. Energetische Betrachtungen - Wirkungsgrad, die während des Ablaufs jeder Funktion in der Umgebung stattfindende Entropievermehrung, im weiteren Sinne auch die Tätigkeit der Energiequellen, - stehen bei der Untersuchung der speziellen Art der Funktion und deren Ablauf im Hintergrund und sind daher für den funktionellen Aspekt von untergeordneter Bedeutung.

Die Zweckmäßigkeit, die den Funktionen biologischer Systeme für das Leben offensichtlich zukommt, erklärt, daß der funktionelle Aspekt zwangsläufig eine stark finalistische Tendenz enthält. Das macht auch die Anwendbarkeit dieses Begriffes in der Technik begreiflich.

Zwischen Technik und Physiologie besteht insofern eine Verwandtschaft, als bei beiden die - im allgemeinen zweckgerichtete - Funktion im Vordergrund steht. Die Technik konstruiert Systeme, die eine beabsichtigte Funktion verwirklichen sollen. Die Physiologie findet dagegen Systeme mit bestimmter Funktion vor, die sie zu analysieren hat.

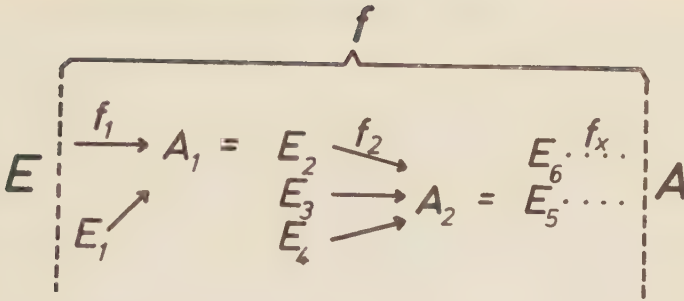
In der Anwendbarkeit des Begriffes "funktioneller Aspekt" auf Fragen der Technik und Physiologie besteht eine Verwandtschaft zum kybernetischen Aspekt. Vom kybernetischen Aspekt gesehen wäre weniger die Energiefortleitung als die Informationsfortleitung in der Nervenfasern hervorzuheben. Die Nachrichten sind in der Faser derart kodiert, daß - nach den Kenntnissen der Nachrichtentechnik - eine optimale, d.h. möglichst genaue und wenig stör anfällige, dabei energetisch nur wenig aufwendige Weiterleitung möglich ist, nämlich als elektrischer Impuls und Pause. Die Information ist in dem Intervall zwischen 2 Impulsen enthalten. Da sich die Intervallbreite zwischen ca. 2 msec der Refraktärzeit und unendlich kontinuierlich ändern läßt, ist dieser Code gegenüber dem in der Dauer variierten elektrischen Impuls keineswegs benachteiligt, jedoch mit wesentlich geringerem Energieaufwand verbunden. Ein Impuls, der die Nachricht als Amplitudenänderung enthielte, würde eine analoge Nachverstärkung erfordern. Die Störanfälligkeit einer Übertragung durch eine Kette von Analogverstärkern wäre sehr groß, da bereits eine geringe Abweichung des Verstärkungsfaktors wegen der großen Zahl der verstärkenden Schnürringe einer Faser zu riesigen Fehlern führen würde. Noch aus anderem Grunde ist die digitale Nachverstärkung von Normimpulsen für die Informationsleitung in der Nervenfasern besonders geeignet, z.B. weil die ankommende Information nur dann weitergeleitet wird, wenn sie einen Schwellenwert überschreitet, der oberhalb des Rauschens liegt (Schwellenfilter).

Das Ziel des kybernetischen Aspektes ist es indessen, die gemeinsamen Prinzipien aufzusuchen, "die der Funktion automatischer Maschinen und menschlicher Nervensysteme gemeinsam sind und die Entwicklung einer Theorie, die das gesamte Gebiet der Kontrolle, Steuerung und Rückmeldung bei Maschinen und Lebewesen umfaßt" (in WESTPHAL 1952). Die Kybernetik stellt also das Gemeinsame komplexer Funktionen von Maschinen und Lebewesen heraus, wobei die Regelung durch Rückkopplung eine entscheidende Rolle spielt. Die speziellen Detailfunktionen, durch die sich Lebewesen und Maschinen stark unterscheiden, sind für die Kybernetik belanglos, nicht aber für den funktionellen Aspekt. Sein Ziel ist es umgekehrt, die für die komplexe Funktion im Falle des speziell untersuchten Systems zwingend notwendigen Einzelfunktionen aufzusuchen und diese vor allem auch direkt zu messen. Die Kenntnis der notwendigen Detailfunktionen bildet gewöhnlich die Basis für ein weiteres Eindringen in die Natur des speziellen Objektes, nämlich für die Untersuchung der speziellen Mechanismen.

Jede physikalische Beschreibung eines Systems läßt sich auffassen als die Angabe einer Abbildung f , die eine Teilmenge von Meßgrößen E (Eingangsmenge) in eine Teilmenge von Meßgrößen A (Ausgangsmenge) abbildet.

$$E \xrightarrow{f} A$$

Im allgemeinen läßt sich diese Funktion aus einer Zahl von Detail-Abbildungen $f_1, f_2, \dots, f_x$ herleiten, die zwischen zusätzlichen Eingangs- und Ausgangsgrößen ($E_1, E_2, \dots, E_x$ und $A_1, A_2, \dots, A_x$) vermitteln.



Verzichtet man bewußt auf eine solche detaillierte Ableitung (etwa aus ökonomischen Gründen) und ebenso auf eine physikalische Interpretation von Größen (z.B. Termen), die in f auftreten, interpretiert man also nur E und A , so nennt der Sprachgebrauch diese Beschreibungsweise "funktionell".

Diese allgemeine Definition des Begriffes Funktion erfährt in der Physiologie eine Spezialisierung insofern, als E und A sprachliche Aussagen sind, die aufeinander bezogen werden, und als die Funktion f üblicherweise gleichbedeutend ist mit der Tätigkeit eines Organs oder Organsystems. Diese Tätigkeit ist in der besonderen Organdifferenzierung begründet und für das System im Sinne der Physiologie kennzeichnend.

Auf das einfache physiologische System: erregbare Membran angewendet, wäre E der unterschwellige oder überschwellige Reizimpuls, A die unterschwellige Erregung oder das Aktionspotential. f bezeichnet die Abbildung z.B. eines überschwelligen Reizimpulses auf den verstärkten Antwortimpuls, d.h. auf das Aktionspotential und damit die Funktion, an der die erregbare Membran des Schnürrings als solche erst erkennbar ist. $f_1, f_2, \dots, f_x$ bestünden in Detailabbildungen, welche mögliche "Erklärungen" für die gemessene Funktion im einzelnen beschreiben. Dazu gehören z.B. mit dem Leitfähigkeitsmechanismus direkt zusammenhängende submikroskopische oder molekulare Stoffumwandlungen, oder Carriermechanismen, welche jedoch bisher nicht direkt gemessen und daher in quantitativen Beschreibungen nicht berücksichtigt, bzw. als Hypothesen eingeführt worden sind. Jede Angabe von $f_1, f_2, \dots, f_x$ wird gewisse Akzente setzen. So steht in der Ionentheorie die Existenz der Ionenbatterien im Vordergrund, oder in unserer Sprache gesagt, die Abbildung: Konzentrationsgradient $\longrightarrow$ Membranpotential. Wir verlegen den Akzent auf die für die erregbare Membran des Schnürrings charakteristische

Steuerfunktion, damit also auf die Abbildung, beschrieben durch
 $V \longrightarrow I(V, t).$

Ebenso wie in der Technik können wir die Funktion, d.i. gewöhnlich der Ablauf eines Vorgangs in der Zeit, auf eine mathematische Gleichung oder eine empirisch ermittelte Kurve zurückführen, die die Abbildung der für die Funktion des Systems besonders interessierenden Meßgrößen aufeinander darstellt, jedoch die Zeit nicht enthält, z.B. $V \longrightarrow I(V)$. Ein solches Diagramm gibt das charakteristische, vom Zeitpunkt der Beobachtung sowie vom zeitlichen Ablauf der einzelnen Tätigkeit unabhängige Verhalten des Systems wieder und wird deshalb als dessen Kennlinie oder Charakteristik bezeichnet. Von der stationären Kennlinie, einer zeitunabhängigen, praktisch wie eine Eigenschaft des betreffenden Systems zu betrachtenden Größe, läßt sich dessen Funktion als Spezialfall einer in der Zeit ablaufenden Tätigkeit direkt ableiten.

Eine physiologische Funktion ist im Gegensatz zu einer stationären Kennlinie gewöhnlich der Ablauf einer Tätigkeit in der Zeit. Wenn das System keine Größen enthält, die von der Geschwindigkeit der zeitlichen Änderung einer anderen Größe abhängen, so beschreibt die stationäre Kennlinie die Funktion des Systems in Bezug auf die dargestellten Größen vollständig. Hängt dagegen eine der Systemgrößen (z.B. I) von der zeitlichen Änderung einer anderen (z.B. dV/dt , siehe Abschnitt C des ersten Teils der Ergebnisse) ab, (so beschreibt die stationäre Kennlinie den dynamischen Funktionsablauf nicht mehr vollständig. Vielmehr gelten dann während kleiner Zeitintervalle für den Funktionsablauf Kurvenscharen (z.B. im Strom-Spannungsdiagramm), sog. Ortskurven, deren Scharparameter die Zeitableitung der betrachteten Größe ist. Da die Ortskurven bei unendlich langsamer Änderung ($t \longrightarrow \infty$) zwangsläufig auf die Kennlinie zurückgehen, ist diese letztere die wirklich kennzeichnende Eigenschaft des betreffenden Systems.

Zusammenfassend können wir feststellen, daß eine Betrachtungsweise dann funktionell ist, wenn nur die Funktion eines Systems beachtet und nach Eigenschaften des Systems gesucht wird, von denen sich die Funktion ableiten läßt. Diese Eigenschaft ist im Allgemeinen eine an dem System darstellbare Kennlinie, d.h. eine Beziehung zwischen zwei oder mehreren Variablen von den in der Funktion enthaltenen physikalischen Dimensionen, z.B. von Strom und Spannung. Als Eigenschaft, die die Funktion des Systems bestimmt, muß eine solche Kennlinie permanent vorhanden, also stationär sein, solange das System als funktionsfähiges Gebilde existiert.

D. Die erregbare Membran des Schnürrings betrachtet als elektrischer Zweipol

Die Funktion des Schnürrings besteht in der Beantwortung eines überschwelligen elektrischen Reizimpulses beliebiger Form durch einen Normimpuls, dessen Energieinhalt unter normalen Bedingungen größer ist, als der des Reizimpulses. Der einzelne Verstärkungsvorgang beginnt mit einem regenerativen Spannungssprung.

Wird die funktionelle Betrachtungsweise angewendet, so besteht der erste Schritt zur experimentellen Analyse dieser Membranfunktion darin, eine vom einzelnen Verstärkungsvorgang unabhängige, direkt meßbare elektrische Grundeigenschaft der Membran zu suchen, die ihrer Tätigkeit, digital zu verstärken, zugrunde liegt.

Eine Beschreibung elektrischer Eigenschaften geht auf die physikalischen Begriffe Strom, Spannung, Widerstand und Kapazität zurück und ist letzten Endes eine Darstellung der gesetzmäßigen Zusammenhänge dieser Größen, der eine Art Ersatzschaltbild zugrundeliegt. An manchen Präparaten, so auch an der Nervenfaser ergaben elektrische Messungen, daß bestimmten histologischen Bauelementen des Objektes bestimmte elektrische Eigenschaften zugeordnet werden können (STÄMPFLI 1952). Diese histologischen Bauelemente können also in guter Näherung auch als getrennte elektrische Bauelemente betrachtet werden, aus denen sich ein jeweils für eine bestimmte Fragestellung gültiges, vereinfachendes Ersatzschaltbild des Präparates ableiten läßt. Es sei betont, daß wir unter Ersatzschaltbild nicht etwa eine Modellanordnung verstehen, die unter Verwendung beliebiger Schaltelemente lediglich das Verhalten eines Präparates nachbildet, sondern eine durch experimentelle Ergebnisse vorgeschriebene Verknüpfung der am Präparat im einzelnen wirklich meßbaren elektrischen Eigenschaften. Morphologische und elektrische Untersuchungsergebnisse zusammengenommen führen zu Ersatzschaltbildern, die den Eigenschaften eines biologischen Präparates für begrenzte Fragestellungen weitgehend gerecht werden.

Die erregbare Membran besitzt 2 elektrische Anschlüsse, einen äußeren und einen inneren, axonseitigen Anschluß. Beide Anschlüsse führen den gleichen Membranstrom. Unter Strom verstehen wir in diesem Zusammenhang den elektrischen Strom, gemessen in Ampère, unabhängig davon, welche speziellen Ladungsträger (Ionen verschiedener Atome) für den Strom verantwortlich sind. Der Vorteil der Zweipolbetrachtungsweise liegt darin, daß man von dem besonderen Inhalt des Schaltelementes "Zweipol" zunächst unabhängig wird und "allgemeingültige Eigenschaften überblickt, die jedem durch einen Zweipol dargestellten Gebilde zukommen" (OBERDORFER 1949).

Da ein elektrischer Zweipol nur dann verstärken kann, wenn sich sein Widerstand ändert, muß die Eigenschaft, die der Verstärkerfunktion zugrundeliegt, im Widerstandsverlauf des Zweipols, also in der ihm eigenen Verknüpfung von Strom und Spannung, d.h. in seiner Strom-Spannungs-Charakteristik zum Ausdruck kommen. Zwischen dem Widerstand, den die Membran im Ruhepotential hat, also dem "Ruhewiderstand" auf den der Schwellenreiz wirkt und dem "Aktionswiderstand" im Bereich der Spitzenspannung des AP, findet der regenerative Übergang statt, der die Energielieferung einleitet. Nur wenn dieser Spannungsabschnitt erreicht wird, beobachten wir eine Verstärkung. Welche Bedingung muß das Präparat erfüllen, um in diesem Spannungsbereich verstärken zu können.

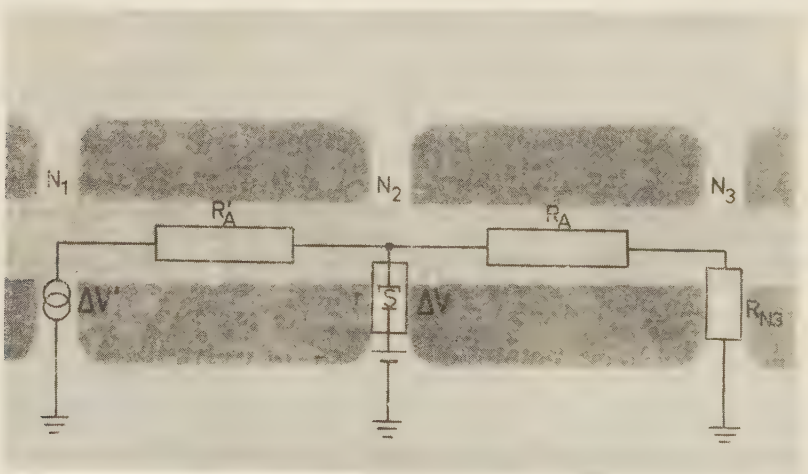


Abb. 1 a Verknüpfung von Verstärkerfunktion und differentiellem negativen Widerstand r des aktiven Zweipols "erregbare Membran" am Schnürring. Nervenfasern in schematischem Längsschnitt. Heller, in Längsrichtung durchziehender Streifen: Axon. Dunkler, das Axon umgebende Flächen: Markscheide. In regelmäßigen Abständen auftretende Unterbrechungen der Markscheide: Schnürringe N_1, N_2, N_3 . Schnürringsabstände relativ zum Faserdurchmesser stark verkleinert. Eingezeichnet das stark vereinfachte Ersatzschaltbild bestehend aus dem aktiven Zweipol r (mit Steuerelement, erkennbar am Schaltsymbol mit eingezeichnetem S und Gleichspannungsquelle) sowie dem Lastwiderstand, bestehend aus R_A, R_A und R_{N3} .
 $\Delta V'$ Spannung des Reizimpulses;
 ΔV Spannung des Antwortimpulses.

E. Die für Verstärkerfunktion und regenerative Spannungsänderungen notwendigen Eigenschaften eines Zweipoles

Der als Verstärker wirkende Zweipol ist im Zusammenhang seiner Schaltung maßgebend dafür, daß es tatsächlich zu der oben genannten Energielieferung kommt, die das auf dem Weg durch das Internodium abgeschwächte Signal wieder aufbereitet. Das Präparat, ein Schnürring mit benachbarten Internodien, kann durch eine Schaltung von Widerständen und Spannungsquellen dargestellt werden (Abb. 1 a). R_L sei die Gesamtsumme der Lastwiderstände (Axonwiderstände R_A und R'_A , sowie der Membranwiderstand des Nachbarschnürrings R_{N3}) eines Internodiums, r der differentielle Widerstand des verstärkenden Zweipols in der Membran

$$r = \frac{dV}{dI} \quad \left| \begin{array}{l} \text{für eine bestimmte} \\ \text{Membranspannung } V. \end{array} \right.$$

Eine Spannungsänderung $\Delta V'$ am Eingang zum Axon R'_A bewirkt eine Änderung der Schnürringsspannung ΔV , die durch die Spannungsverstärkung der Schaltung

$$\mu_V = \frac{\Delta V}{\Delta V'} = \frac{R_A (R_A + R_{N3})}{R'_A (R_A + R_{N3}) + (2 R_A + R_{N3}) \cdot r} \quad (4)$$

gegeben ist. Faßt man, wie oben beschrieben, die Widerstände zu einer gesamten Last R_L zusammen, so erhält man aus (4)

$$\mu_V = \frac{R_L}{r + R_L}$$

Die Spannungsänderung $\Delta V'$ an $R_L + r$ bewirkt an der Last eine Spannungsänderung ΔV . Durch Schnürring und Last fließt der gleiche Strom, also folgt

$$\Delta V' = \Delta I (R_L + r) \quad (4a)$$

$$\Delta V = \Delta I \cdot R_L \quad (4b)$$

Ist $\Delta V'$ überschwellig, so gilt während der Reizantwort, also in einem bestimmten Zeitintervall

$$|\Delta V| > |\Delta V'|$$

weil die erregte Membran die Reizspannung $\Delta V'$ verstärkt.

$$|\Delta I| \cdot R_L > |\Delta I| \cdot |(R_L + r)|$$

Als notwendige Bedingung für die Verstärkung des Zweipols ergibt sich

$$\begin{aligned} R_L &> |(R_L + r)| \quad \text{oder} \\ 0 &> r \end{aligned} \tag{4c}$$

Wir erwarten demnach für unseren Zweipol eine Strom-Spannungskennlinie mit einem negativen Widerstand, der von zwei positiven Widerständen, dem "Ruhewiderstand" und dem "Aktionswiderstand" begrenzt wird.

Wie eingangs dargestellt wurde, wirkt der Schnürring als Digitalverstärker: sobald die Schwellenspannung überschritten wird, tritt eine regenerative, d.h. sich selbst unterhaltende Spannungsänderung auf. Dadurch steigt die Spannung schlagartig weiter an, bis die fest vorgegebene Spitzenspannung des Nervenimpulses - etwa das 10-fache der Schwellenspannung - erreicht ist. Wie im Abschnitt "Verstärkerfunktion des Schnürrings" (2. Teil der Ergebnisse) ausführlich dargestellt wird, lautet die Bedingung für den Umschlag der Spannung

$$\frac{1}{R_L} + \frac{1}{r} < 0$$

Da R_L immer positiv ist, folgen daraus 2 Bedingungen, nämlich

$$\begin{aligned} r &< 0 \\ |r| &< R_L \end{aligned} \tag{4d}$$

Wie man sieht, umfaßt die letzte Bedingung die vorige, die wir als notwendige Bedingung für die Verstärkung eines Zweipols schlechthin abgeleitet haben - der Einfachheit halber zunächst aus einer Betrachtung über die Spannungsverstärkung, die ja im elektrophysiologischen Experiment am augenfälligsten ist. Im Abschnitt "Verstärkerfunktion des Schnürrings" kann gezeigt werden, daß diese Bedingung auch für die Strom- und Leistungsverstärkung eines Zweipols gilt.

Es ergibt sich somit zwangsläufig, daß ein verstärkender Zweipol, an dem man eine Spannungsverstärkung beobachtet, wie beim Schnürring, nur durch einen regenerativen Spannungsumschlag (Alles- oder Nichts-Antwort) ver-

stärken kann. Die Bedingung dafür ist nur dann gegeben, wenn der differentielle negative Widerstand dem Betrag nach kleiner ist, als alle anhängenden Lastwiderstände. An einer fallenden Strom-Spannungscharakteristik wäre demnach nicht nur die Verstärkereigenschaft, sondern gleichzeitig auch der spezielle Verstärkertyp des Schnürrings (Digitalverstärker) erkennbar.

Die spezielle Funktion des Schnürrings zwingt uns zu weiteren, für die Messung wichtigen Überlegungen über die mutmaßliche Form seiner Kennlinie. Ein Zweipol mit fallender Charakteristik wirkt nur dann als Digitalverstärker, wenn der Abschnitt negativen Widerstandes ($r < 0$) in seiner Kennlinie nach beiden Seiten durch positive Widerstände ($R > 0$) begrenzt ist.

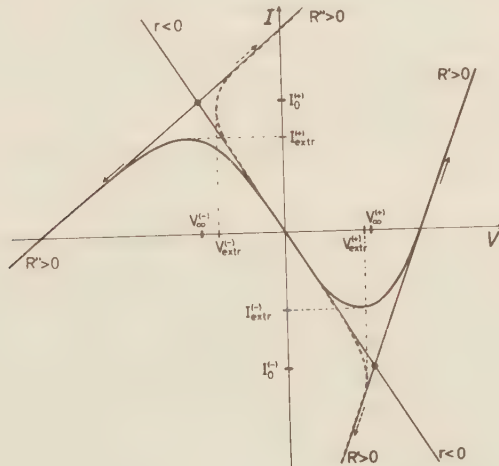


Abb. 1 b Zwei verschiedene Formen der (beschränkten) fallenden Charakteristik, möglich bei Begrenzung des negativen Widerstandes ($r < 0$) durch positive Widerstände ($R' > 0$ und $R'' > 0$).

1. Typ: Äste positiven Widerstandes schneiden die Ordinate: Typ der Gasentladungs-, oder 4-Schicht-Diodenkennlinie; V eindeutig bestimmt, wenn der Strom vorgegeben ist.
2. Typ: Äste positiven Widerstandes schneiden die Abszisse: Typ der Tunneldioden- oder Schnürring-Kennlinie; I eindeutig bestimmt, wenn die Spannung vorgegeben ist.

Im Diagramm Abb. 1 b schneiden die positiven Widerstände den negativen Widerstand in den Punkten I_0/V_∞ . Außerdem besitzen sie je einen Ordinaten- und Abszissenschnittpunkt. Folgt die Kennlinie den positiven Widerständen in Richtung der Ordinaten Schnittpunkte, so liefert sie uns in einem Bereich, der durch die Abszissenprojektion von r gegeben ist, 3 mögliche Stromwerte für einen Spannungswert. Alle zugeordneten Strom-Spannungswerte dieser Kennlinie sind bestimmt, wenn der Strom als unabhängige Variable vorgegeben wird. Diesen Typ der Kennlinie finden wir bei der Gasentladung und bei der 4-Schicht-Diode. Folgt die Kennlinie dagegen, vom Abschnitt des negativen Widerstandes kommend, den begrenzenden positiven Widerständen in Richtung auf deren Abszissenschnittpunkt, so existiert ein Abschnitt, in dem 3 Spannungswerte einem vorgegebenen Stromwert zugeordnet sind. Diesen Kennlinientyp finden wir bei der Tunnel diode. Alle Schaltelemente mit derartigen Kennlinien zeigen ebenso wie der RANVIER'sche Schnürring Spannungssprünge, wenn dieser Bereich mehrdeutiger Zuordnung von Strom und Spannung mit eingepprägtem Strom angesteuert wird. Wir dürfen daher annehmen, daß der Schnürring eine fallende Charakteristik vom Typ der Tunnel-Diodenkennlinie besitzt.

Ein aktiver Zweipol ist also nur dann ein Verstärker, wenn er einen reellen differentiell negativen Widerstand aufweist, denn diese Eigenschaft ist eine notwendige Bedingung für sein regeneratives Verhalten und damit für seine Funktion als Verstärker. Wie wir im vorigen Abschnitt gesehen haben, muß bei einem jederzeit funktionsbereiten System wie dem Schnürring die Eigenschaft, die für dessen Funktion verantwortlich ist, gegenüber der Dauer eines einzelnen Funktionsablaufs stationär, also stets vorhanden sein, solange das System überhaupt funktionsfähig ist. Wenn wir die erregbare Membran als Zweipol betrachten, so wäre ihre Steuereigenschaft, die ihrer Verstärkertätigkeit zugrundeliegt, durch den Nachweis einer stationären fallenden Charakteristik hinreichend erklärt.

Soll eine Kennlinie mit einem Bereich, in dem die Spannung bezüglich des Stromes mehrdeutig ist, stationär gemessen werden, so ist man gezwungen, die Spannung als unabhängige Größe vorzugeben, d.h. einzuprägen, während der Strom, der sich nunmehr eindeutig einstellen kann, als abhängige Variable bestimmt wird. Unter diesen Bedingungen läßt sich eine stationäre fallende Charakteristik am Schnürring tatsächlich messen (BALK und MÜLLER-

MOHNSSEN 1962, 1966; MÜLLER-MOHNSSEN und BALK 1964). Die Meßbedingungen und die von uns verwendete Meßschaltung werden im folgenden Abschnitt eingehend dargestellt und kritisch analysiert.

II. Methode

A. Einige ältere Messungen von Kennlinien erregbarer Membranen

Die von COLE und MARMONT (COLE 1949), von HODGKIN, HUXLEY und KATZ (1949, 1952) vervollkommnete sog. "Voltage Clamp"-Methode erlaubt die Einprägung kurzer Spannungsimpulse an der Membran. HODGKIN, HUXLEY und KATZ (1952), DODGE und FRANKENHAEUSER (1959), TASAKI und BAK (1959), TASAKI und SPYROPOULOS (1958) u.a. haben mit dieser Methode die Membranströme gemessen, die durch Rechteck-Spannungsimpulse von ≈ 1 msec Dauer hervorgerufen werden. Polarisierende (negative) Impulse verursachen Einwärtsströme mit linear zunehmender Amplitude, positive Impulse - wenn sie von V_{Na} (dem nach NERNST berechneten Membranpotential für den Na-Konzentrationsgradienten) ausgehen - Auswärtsströme, ebenfalls linear mit der Spannung zunehmend. Zwischen 10 mV, also der Schwellenspannung und V_{Na} , also im Aktivitätsbereich, fanden die Autoren kurzdauernde Einwärtsströme, ehe sich der stationäre Auswärtsstrom einstellt, i.e. der Strom, der in seiner Richtung der Polarität der angelegten Spannung entspricht. Die Einwärtsströme nehmen von 10 bis 40 mV zu und dann bis V_{Na} ($I = 0$) ab. Dies Ergebnis spricht für einen instationären negativen Widerstand im Bereich von +10 bis +40 mV. Instationär deshalb, weil er nur 100 μ sec lang meßbar ist, also nur ebensolange, wie der Übergang der Spannung, d.h. der Anstieg des AP dauert. Die Einwärtsströme sind an ihrer Dauer als Aktionsströme zu einer Art künstlich der Membran aufgezwungenen Aktionspotentialen identifizierbar, TASAKI (1958). So wird während kurzer Voltage-Clamp-Impulse der Schaltvorgang selbst registriert, nicht aber eine stationäre Eigenschaft der Membran, auf die man den Schaltvorgang zurückführen könnte.

Mit dieser Methode wird also nur der komplexe Widerstand gemessen, wobei Real- und Imaginärteil nicht voneinander zu trennen sind. Als Grundlage zur Erklärung des Verstärkermechanismus durch die Strom-Spannungs-Charakteristik ist jedoch die Kenntnis ausschließlich der Realkomponente des Widerstandes erforderlich. Die Kennlinie, die keine reaktiven Widerstandskomponenten enthalten soll, muß also zeitunabhängig, d.h. stationär gemessen werden. Diese Tatsache ist für die Untersuchung der Verstärkerfunktion erregbarer Membranen, bzw. des AP, wie auch für die Untersuchung jedes

anderen dynamischen Vorganges wichtig, denn der erste Schritt zur physikalischen Erklärung eines Ablaufes besteht in der weitestmöglichen Rückführung auf die zeitunabhängigen stationären Eigenschaften des betreffenden Systems.

Das Auftreten von negativen Strömen während positiver rechteckförmiger Spannungsänderungen an der Membran, d.h. während künstlicher "Aktionspotentiale", und damit die Nachweisbarkeit eines dynamischen negativen Widerstandes ergibt sich zwangsläufig aus dem Ablauf der normalen Membranaktivität, ist darum keineswegs überraschend. Dagegen ist nicht ohne weiteres vorauszusagen, ob ein reeller negativer Widerstand auch unabhängig vom Erregungsablauf als stationäre Membraneigenschaft meßbar ist. Bei einer Reihenschaltung mit einer als Kapazität wirkenden Membraneigenschaft wäre er stationär in keinem Falle meßbar. Ähnliches gilt - wie im 1. Teil der Ergebnisse ausführlich dargestellt wird - unter physiologischen Bedingungen für die Na-Kennlinie tatsächlich.

STÄMPFLI (1958) hat die Kennlinie des einzelnen Schnürrings aufgenommen, indem er die Änderungen der Membranspannung registriert hat, die auftreten, wenn stationär eingeprägte Meßströme verschiedener Polarität und Stärke durch das Präparat fließen. Kennlinien von Schnürringen, die mit Normal-Ringerlösung gespült wurden, zeigten einen hochohmigen Ast im 3. Quadranten (I und V negativ) und einen niederohmigen Ast im 1. (I und V positiv), also eine Gleichrichtercharakteristik ohne einen Bereich negativen Widerstandes. Wird die Membran durch Erhöhung der extracellulären K^+ -Ionen-Konzentration $[K^+]_a$ depolarisiert, so verhält sie sich bei negativen, also die Membran hyperpolarisierenden Meßströmen wie ein Ohm'scher Widerstand vom Betrag des niederohmigen Astes. Sobald die Membranspannung bei größeren Meßströmen eine bestimmte, im Bereich positiver Spannungen liegende Repolarisationsschwelle überschreitet, setzt die Gleichrichterwirkung nach einem Potentialumschlag auf den hochohmigen Ast plötzlich wieder ein, d.h. nach einem Potentialsprung in Sperrichtung stellt sich die Strom-Spannungskennlinie nahe dem hochohmigen Ast der Ruhecharakteristik auf einen stationären Wert ein und läuft von hier aus mit der gleichen Neigung weiter wie vor der Depolarisation. Wird das Diagramm mit abnehmender Meßstromamplitude aufgenommen, so läßt sich der hochohmige Ast bei kleineren Meßströmen weiterverfolgen. Der Potentialumschlag vom hochohmigen auf den niederohmigen Ast tritt erst bei kleineren Stromwerten nahe dem Ruhepotential auf. Die Tatsache,

daß 2 Stromwerte in diesen Registrierungen auftreten, für die der Spannungswert doppeldeutig ist, spricht für die Existenz eines negativen Widerstandes in der stationären Kennlinie, der sich jedoch zumindest mit der verwendeten Methode nicht stationär messen läßt.

B. Vorbemerkung zur Technik der "stationär eingepprägten Spannung"

1. Prinzip der Messung einer stationären fallenden Charakteristik

Abb. 2 stellt schematisch eine fallende Charakteristik des Typs dar, wie wir ihn am Schnürring erwarten und gemessen haben.

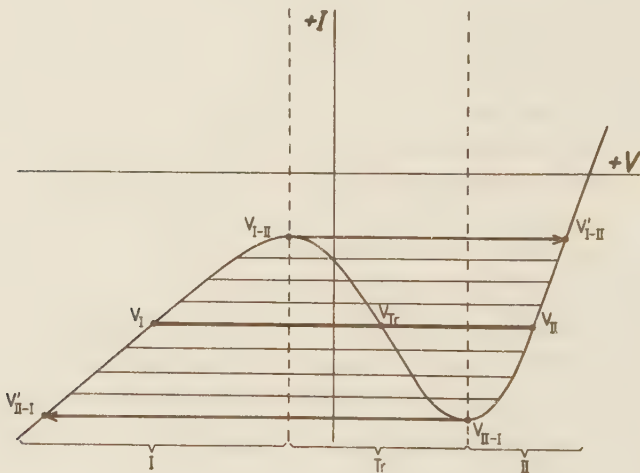


Abb. 2 Beispiel einer fallenden Charakteristik vom Typ der Schnürrings-Kennlinie: eine eindeutige Zuordnung aller Strom- und Spannungswerte besteht nur bei vorgegebener Spannung. Ordinate: Strom (I) Abszisse: Spannung (V). I und II Spannungsbereiche, in denen der differentielle Widerstand positiv ist. Tr: Spannungsbereich mit differentiell negativem Widerstand (Transiens- oder Übergangsbereich); Erläuterungen siehe Text.

Der schraffierte Bereich ist dadurch ausgezeichnet, daß einem vorgegebenen Stromwert I drei verschiedene Spannungswerte (V_I , V_{Tr} , V_{II}) bzw. den Grenzwerten von I zwei Spannungswerte (V_{I-II} und V_{II-I} bzw. V'_{I-II} und V'_{II-I}) zu-

geordnet werden können. Lediglich außerhalb dieses Bereiches ($V < V'_{II-I}$ und $V > V'_{I-II}$) ist bei vorgegebenem Strom eine eindeutige Zuordnung von Strom und Spannung möglich. Wird im Gegensatz dazu die Spannung vorgegeben, so ist in allen Bereichen der Kennlinie - auch im schraffierten - jedem Spannungswert ein Stromwert eindeutig zugeordnet.

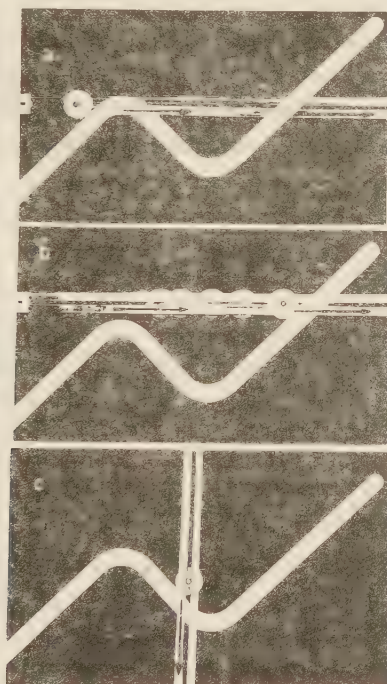


Abb. 3 Modell zur Demonstration regenerativer Spannungsänderungen an einer Kennlinie mit negativem Widerstand. Strom-Spannungskennlinie durch eine n-förmig gebogene Schiene dargestellt. Die Neigung der geraden Schiene (Arbeitsgerade der Meßanordnung) bestimmt, welcher Meßparameter die unabhängige Variable darstellt; die Lage der geraden Schiene gibt dessen Betrag an. Die Lage der Rolle (zugeordneter Strom-Spannungswert) wird durch den Schnittpunkt beider Schienen bestimmt. Pfeil gibt die Richtung der auf die Rolle wirkenden Kraft an.

a) Messung mit eingepprägtem Strom (Arbeitsgerade parallel zur Abszisse, s. S. 25).

- b) Parallel-Verschiebung der geraden Schiene nach oben, d.h. Anstieg des Stromes über den oberen Extremwert der Kurve: Rolle verliert die Führung auf der linken Seite der gebogenen Schiene, springt über den Bereich des "negativen Widerstandes" hinweg und schlägt auf der rechten Seite auf. Das entspricht einem Potentialsprung über den Bereich negativen Widerstands hinweg. Der negative Widerstand ist nicht meßbar.
- c) Messung mit eingepprägter Spannung (Schiene parallel zur Ordinate, Verschiebung nach links oder rechts). Kein "Instabilitätsbereich" bei einer Veränderung der Spannung über die gesamte Kurve; der negative Widerstand ist meßbar.

Es ist leicht einzusehen, daß Spannungswerte V_{Tr} bei vorgegebenem Strom instabil sind. Die Konsequenz, die sich daraus für das Verhalten solcher Schaltelemente bei der Messung ihrer stationären Kennlinie ergibt, soll an einem mechanischen Modell demonstriert werden.

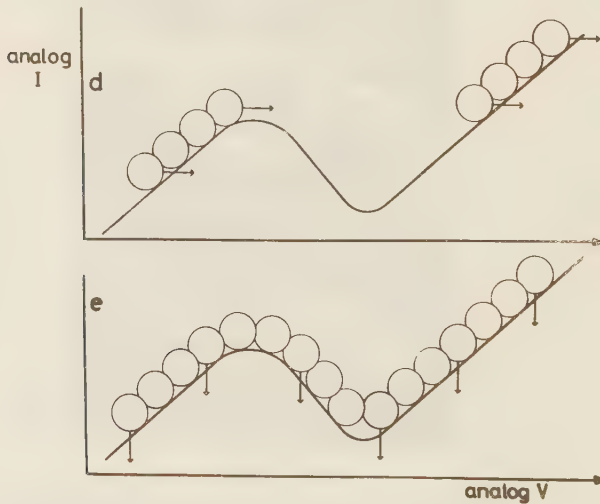


Abb. 3 d) Stabile Lagen der Rolle bei "Messung mit eingepprägtem Strom" (siehe a) und b)) dargestellt am Beispiel der Messung mit zunehmendem Strom.
e) Stabile Lagen bei "Messung mit eingepprägter Spannung".

In diesem Modell (Abb. 3) besteht die Kennlinie aus einer n-förmig gebogenen Schiene, auf der eine Rolle läuft. Die Rolle, die einen beliebigen zugeordneten Strom-Spannungswert darstellt, wird durch eine gerade Schiene auf der Kennlinie geführt und ist daher nur in einer Richtung frei beweglich. Die Be-

wegung senkrecht zur Schiene kann nur durch die Verschiebung der Schiene selbst erfolgen, wird also durch die Schiene "eingepreßt". In Richtung der geraden Schiene wirkt eine die Energie des Systems darstellende Federkraft auf die Rolle derart, daß diese bei einer Verschiebung der geraden Schiene gezwungen ist, auf der Kennlinie zu laufen.

Liegt die Schiene parallel zur Abszisse, so daß sich die Rolle nur in Abszissenrichtung frei bewegen kann (Abb. 3), so entspricht das im Kennlinienbild der Messung von V in Abhängigkeit von I (Anordnung der Messung von STÄMPFLI 1958). Wird der vorgegebene Strom erhöht (Bewegung der parallel zur Abszisse liegenden Schiene in Richtung der Ordinate nach oben) und der entstehende Spannungsabfall registriert, so wird V am Maximum der Kurve instabil (Abb. 3b): es tritt ein Spannungssprung auf, der den negativen Widerstand überspringt und endet, sobald V auf dem zweiten Ast positiven Widerstandes wieder stabile Bedingungen vorfindet. Da der Spannungswert für den Maximalstrom demnach mehrdeutig ist, kann der negative Widerstand durch einen eingepreßten Strom nicht gemessen werden (Abb. 3d). Wird dagegen die Spannung eingepreßt (Verschiebung der geraden Schiene parallel zur Ordinate Abb. 3c) und der Strom als abhängige Variable gemessen, so kann der negative Widerstand kontinuierlich registriert werden (Abb. 3d).

2. Die Arbeitsgerade der Meßanordnung

Antwort auf die Frage, ob die Messung der fallenden Charakteristik durch eine Meßanordnung mit eingepreßtem Strom oder eingepreßter Spannung erfolgt, gibt ein Vergleich der Eigenschaften von Meßapparatur und Meßobjekt. Als Kriterium gilt der Unterschied zwischen der Steigung der Arbeitsgeraden unserer Meßanordnung am Meßobjekt und der größten Steigung der Kennlinie im Bereich des negativen Widerstandes. Grundsätzlich messen wir die Kennlinie eines Zweipols, so auch die des Schnürrings in der durch Abb. 4 dargestellten Weise. Wir bestimmen die bei bestimmten Werten des Meßparameters - in diesem Falle der Meßspannung U_1 - am Schnürring auftretenden Werte von Strom und Spannung.

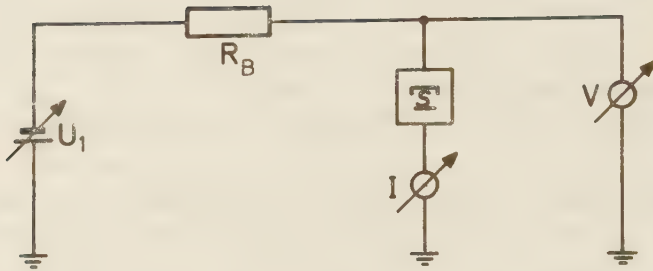


Abb. 4 Prinzipschaltung zur Messung einer Strom-Spannungs-Kennlinie. Schaltzeichen des Schnürrings am eingezeichneten S erkennbar. U_1 Meßspannungsquelle; R_B Last- oder Bahnwiderstand; I , V Meßpunkte für Strom und Spannung.

Bedeutet R_B der Bahnwiderstand in dieser Schaltung, also die Summe aller zum eigentlichen Meßobjekt R_S in Serie geschalteten Widerstände, so gilt für die Fälle a) $R_S = \infty$ und b) $R_S = 0$

$$\text{a) } I = 0 ; V = U_1 \text{ und}$$

$$\text{b) } V = 0 ; I = U_1 / R_B$$

Die für diese Schaltung möglichen Meßwerte von Strom und Spannung liegen im Strom-Spannungsdiagramm des Objektes auf einer Geraden mit der Neigung

$$\frac{dV}{dI} = -R_B \quad \text{da}$$

$$\text{tg } \alpha = \frac{U_1 / R_B}{U_1} = -1 / R_B \text{ ist.}$$

Man bezeichnet die durch

$$V = -R_B \cdot I + U_1$$

dargestellte Gerade im Strom-Spannungsdiagramm des Meßobjektes als Arbeitsgerade der Meßanordnung. Die Arbeitsgerade stellt eine Ortskurve dar

und beschreibt Verknüpfungen von Strom und Spannung am Meßobjekt, die die Meßanordnung erlaubt, wenn U_1 und R_B vorgegeben sind. Bei einem bestimmten U_1 schneidet die Arbeitsgerade eine Kennlinie mit negativem differentiellen Widerstand im Strom-Spannungswert P (Arbeitspunkt Abb. 5).

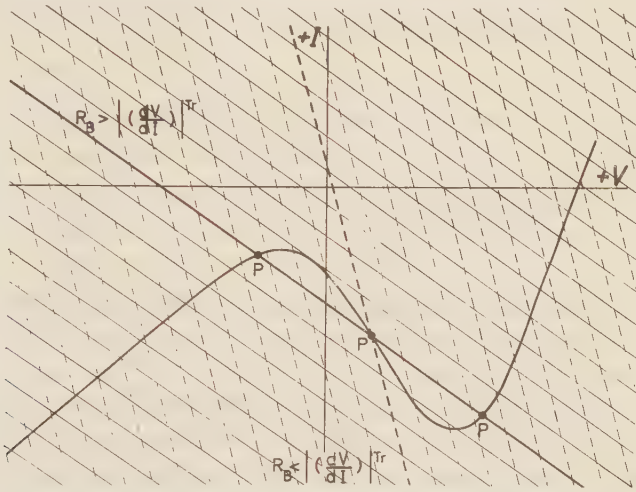


Abb. 5 Abtastung einer Kennlinie mit differentiell negativem Widerstand, dargestellt durch Parallelverschiebung von Arbeitsgeraden. Schnittpunkte P der Arbeitsgeraden mit der Kennlinie; Arbeitsgeraden gekennzeichnet durch

$$R_B > \left| \left(\frac{dV}{dI} \right) \right|^{Tr} \quad (\text{ausgezogene Linien}):$$

Abtastung mit eingepprägtem Strom; mehrdeutige Zuordnung von Strom und Spannung. Arbeitsgeraden

$$R_B < \left| \left(\frac{dV}{dI} \right) \right|^{Tr} \quad (\text{gestrichelte Linien}):$$

Messung mit eingepprägter Spannung; eindeutige Zuordnung von Strom und Spannung. Schnittpunkte der Arbeitsgeraden mit der x-Achse geben die eingestellte Sollspannung U_1 an.

Wird U_1 variiert, so bedeutet das eine Parallelverschiebung der Arbeitsgeraden. Dabei verschiebt sich P auf der Kennlinie, die Kennlinie wird abgetastet. Die Abtastung ist eindeutig, solange die Arbeitsgeraden als Parallelschar jeweils nur einen Schnittpunkt mit der Kennlinie haben. Als kritische

Größe hierfür gilt die Steigung im steilsten Abschnitt des Bereiches Tr : die Abstastung ergibt für alle V der Kennlinie nur dann eindeutige Zuordnung von I , wenn die Steigung der Arbeitsgeraden größer ist, als die maximale Steigung im Bereich von Tr . Wir definieren deshalb als

Abstastung mit eingepprägter Spannung, $I(V)$ eindeutig:
$$\left| \left(\frac{dV}{dI} \right) \right|_{\max}^{Tr} > R_B \quad (5)$$

mit eingepprägtem Strom, $I(V)$ mehrdeutig:
$$\left| \left(\frac{dV}{dI} \right) \right|_{\max}^{Tr} < R_B \quad (6)$$

Für eine ideale Einprägung von Strom oder Spannung wäre $>$ bzw. $<$ durch $\gg$ bzw. $\ll$ zu ersetzen.

3. Bedingungen für die Messung des stationären negativen Widerstandes an der Membran des Schnürrings

Nach der Art seiner Verstärkerfunktion (Spannungssprünge bei Reizung mit eingepprägtem Strom) und den kennzeichnenden Meßgrößen des AP (Reizschwelle, Spitzenspannung, Repolarisationsschwelle), sowie nach den Ergebnissen von Messungen der dynamischen Strom-Spannungs-Kennlinie ist zu erwarten, daß der Schnürring einen stationären negativen Widerstand im 4. Quadranten seiner Strom-Spannungs-Kennlinie aufweist, - bezogen auf das Ruhepotential als Koordinaten-Nullpunkt - also bei Einwärtsströmen in einem Spannungsbereich oberhalb der Reizschwelle. Dieser negative Widerstand soll gemessen werden. Dem vorangegangenen Abschnitt ist zu entnehmen, daß der negative Widerstand stationär nur dann meßbar ist, wenn die Meßspannung an der Membran auch in diesem Spannungsbereich stationär eingepprägt ist. Demnach sind folgende Bedingungen durch die Apparatur (Bedingung 1) und durch das Präparat (Bedingung 2) zu erfüllen:

Bedingung 1 Die Arbeitsgerade der Meßschaltung muß steiler sein als der negative Widerstand des Schnürrings, damit überhaupt eine fallende Charakteristik nachgewiesen werden kann; die Arbeitsgerade muß steil sein gegen den negativen Widerstand, damit dieser dem Betrag nach richtig gemessen werden kann. (Siehe auch S. 32)

Bedingung 2a Sofern das Meßobjekt selbst Spannungsquellen enthält, muß deren Spannung stationär unveränderlich sein; es muß sich also um Festspannungsquellen handeln.

Bedingung 2b Um den negativen Widerstand stationär nachweisen zu können, müssen Ladungsträger vorhanden sein, die auch stationär durch die Membran fließen. Es ist bekannt, daß K^+ eine hohe stationäre Beweglichkeit in der Membran hat. Da der negative Widerstand bei Einwärtsströmen liegt, ist z.B. eine hohe K^+ -Konzentration im Außenmedium erforderlich. In der normalen Ringerlösung sind lediglich 2,5 mM/l K^+ vorhanden. Der stationäre negative Widerstand ist in Ringerlösung nicht meßbar. Um ihn nachweisen zu können, erhöhen wir die $[K^+]_a$.

Bedingung 2c Darüberhinaus müssen die den negativen Widerstand kennzeichnenden Einwärtsströme in dem angegebenen Spannungsbereich auch tatsächlich stationär fließen können. Dies ist nur möglich, wenn die den Spannungsbereich des negativen Widerstandes abtastende Meßspannung als "treibende Kraft" für diejenigen Ladungsträger wirkt, die eine hohe stationäre Beweglichkeit in der Membran haben und daher das Membranpotential beeinflussen. Das ist der Fall, wenn die durch den Konzentrationsgradienten dieser Ladungsträger bestimmte Membranspannung bei positiveren Werten liegt, als der Spannungsbereich des negativen Widerstandes, also während einer Depolarisation. Diese Depolarisation ist mit einer Erhöhung der $[K^+]_a$ (Bedingung 2b) zwangsläufig verbunden.

Zur Erfüllung der Bedingung 1 entwickelten wir eine Meßapparatur, deren Eigenschaften - u.a. ein sehr kleiner effektiver Quellwiderstand der Meßspannung an der Membran und eine hohe Langzeitkonstanz der Null-Lage - speziell auf stationäre Messungen zugeschnitten ist.

Mit dieser Methode ließ sich - im Einklang mit den voltage-clamp-Ergebnissen - an einem mit Normal-Ringerlösung gespülten, auf Ruhepotential liegenden Schnürring nur ein instationärer, nie jedoch ein stationärer negativer Widerstand nachweisen. Da ein Schnürring unter den gleichen Bedingungen aber Aktionspotentiale liefert, demnach einen reellen differentiell-negativen Widerstand besitzen muß, ist dieser a) entweder grundsätzlich, oder b) speziell bei einem auf Ruhepotential liegenden Schnürring nicht stationär meßbar. Der erstere Fall ist durch die Meßergebnisse widerlegt (BALK und MÜLLER-MOHNSEN 1962, MÜLLER-MOHNSEN und BALK 1965), also ist offensichtlich beim ruhenden Schnürring die Bedingung 2 nicht erfüllt.

Für die Darstellung des negativen Widerstandes, also Nachweis von Einwärtsströmen im Depolarisationsbereich ($V < V_{Na}$), kommen an der von Ringerlösung umspülten, auf Ruhepotential liegenden Membran nur Na -Ionen als

Ladungsträger in Frage. Die Na⁺-Batterie liefert in diesem Spannungsbereich tatsächlich Einwärtsströme. Sie wird jedoch - sofern die Membran nicht durch Veratridin vergiftet ist - ca. 100 μ sec nach Beginn der Energielieferung durch einen unbekannten Prozess, den die Ionentheorie als "Inaktivierung" des Na⁺-Überträgers beschreibt, abgeschaltet. Dieses Verhalten ist beschreibbar durch eine Reihenschaltung des negativen Widerstandes mit einer Kapazität oder einem Schalter, die dessen stationäre Messung nicht zulassen.

Die Bedingung 2 wird durch eine Depolarisation erfüllt, die so groß ist, daß eine Meßspannung im Bereich negativen Widerstandes nunmehr als treibende Kraft für stationäre Einwärtsströme wirken kann. Ob die Depolarisation durch eine erhöhte extracelluläre K⁺-Konzentration (bzw. Rb⁺-Konzentration), oder durch eine Veratridin-Vergiftung bei hoher [Na⁺]_a, [Li⁺]_a, [NH₄⁺]_a etc. erfolgt, ist wegen der Verknüpfung von 2b und 2c im Prinzip gleichgültig.

Die von H.H. als Na⁺-Inaktivierung beschriebene Membraneigenschaft, die u.a. bewirkt, daß die Stromlieferung aus der Na⁺-Batterie 100 μ sec nach Beginn der Erregung "abgeschaltet" wird, kann nämlich durch eine Veratridin-Vergiftung aufgehoben werden, so daß die Membranleitfähigkeit für Na⁺ stationär erhöht bleibt; der negative Widerstand ist darum auch während der Veratridin-Depolarisation stationär meßbar.

Im Gegensatz zu Na⁺ wirkt K⁺ auch an der pharmakologisch unveränderten Membran als Ladungsträger für stationäre Ströme. Die den Bereich des negativen Widerstandes abtastende Meßspannung ruft jedoch nur dann K⁺-Einwärtsströme hervor, wenn V_m durch eine Veränderung von E_K bei "positiveren", also noch größeren Depolarisationsspannungen liegt, als der negative Widerstand. An späterer Stelle wird ausführlich dargestellt, daß die Bedingung für die Messung des stationären negativen Widerstandes erfüllt ist, wenn unter sonst normalen Bedingungen (pH, Osmolarität, [Ca²⁺]_a) die Depolarisationsspannung größer ist als +22 mV. Auch während einer K⁺-Substitution durch Rb⁺ ist der negative Widerstand stationär meßbar.

C. Ausführungen der Messungen

1. Das Präparat; Montierung und elektrische Kontaktierung

Die Messungen wurden ausschließlich an überlebenden motorischen Einzelfasern aus dem N. Ischiadicus von Rana-esculenta-Männchen durchgeführt. Es wurden nur Fasern verwendet, deren Erregungsleitung nach der Präparation intakt war. Als Kriterium dafür diente die Zuckung des M. Gastrocnemius nach Reizung des proximalen Nervenstammes mit der galvanischen Pinzette. Die Messung am einzelnen Schnürring, d.h. die Zuführung und Ableitung der Meßströme und -spannungen erfolgte in der 3-Elektrodenanordnung nach STÄMPFLI (1956). In dieser Anordnung wird die Einzelfaser derart montiert, daß die äußeren von 3 Schnürringen (Schnürringe N_1 und N_3 , Abb. 6) in getrennt beweglichen Glaströgen liegen, die mit Ringer-Lösung gefüllt sind. Der mittlere Schnürring, der eigentliche Testschnürring N_2 , liegt in dem keilförmigen Ausschnitt eines zwischen den beiden Glaströgen angeordneten Polyesterrohrchens, das ständig von der jeweiligen Testlösung durchströmt wird. Der Ausschnitt ist so angebracht, daß der Testschnürring im Axialstrom zu liegen kommt. Dem Mittelröhrchen sind Ventile vorgeschaltet mit denen die Testlösungen in weniger als 1 sec gewechselt werden können.

Vor Beginn der Messungen wurden die seitlichen Glaströge auseinandergeschoben, bis die zwischen Mittelröhrchen und Glaströgen bestehenden Flüssigkeitsbrücken getrennt und die Internodien zwischen N_2 und N_1 , sowie zwischen N_2 und N_3 über eine Strecke von ≈ 1 mm von Luft umgeben waren. Parallel zu den dadurch stark erhöhten Außenwiderständen zwischen den Schnürringen konnte der Meßstromkreis geschaltet werden. Als Elektroden dienten unpolarisierbare Calomel-Elektroden mit 1 M KCl-Lösung als Elektrodenflüssigkeit. Die elektrische Verbindung von den Elektroden zu den Glaströgen und dem Mittelröhrchen wurde über Ringer-Agar-Brücken hergestellt.

2. Lösungen

Die Normal-Ringer-Lösung enthielt in Millimol pro Liter: 110,5 NaCl; 2,5 KCl; 2,4 NaHCO_3 ; 1,8 CaCl_2 . Die zur Depolarisation verwendeten K^+ -reichen Lösungen enthielten die in der späteren Beschreibung der einzelnen Experimente angegebenen Mengen KCl im Austausch gegen äquimolare Mengen NaCl. Bei der Herstellung der RbCl , LiCl , NH_4Cl und $[(\text{H}_2\text{N})_3\text{C}]^+\text{Cl}^-$ (Guanid-

dino-Hydrochlorid) -haltigen Lösungen wurde entsprechend verfahren. Für die meisten Experimente wurden diese Lösungen nach volumetrischem Verfahren aus Stammlösungen angesetzt. Lediglich die D_2O -Lösungen (99,75% D_2O MERCK) und die im gleichen Experiment zum Vergleich verwendeten H_2O -Lösungen erhielten wir durch Einwaage der Substanzen.

Die $5 \cdot 10^{-6}$ g-proz. und die $1 \cdot 10^{-5}$ g-proz. Veratridin-Ringer-Lösungen wurden 1 Stunde vor Beginn des Versuches durch Auflösen der Substanz in neutralem Normal-Ringer hergestellt. Auf die Herstellung aus einer Veratridin-Stammlösung, die Veratridin in HCl gelöst enthält, mußte verzichtet werden, da Änderungen des pH-Wertes zu starken Kennlinienveränderungen führen.

Für die Experimente über die Abhängigkeit des stationären und dynamischen Membranverhaltens von $[Na]_a$ wurden die Lösungen durch Einwaage von NaCl der angegebenen Menge in eine isotonische KCl-Lösung hergestellt. Diese enthielt lediglich 115,4 mM/l KCl und 1,8 mM/l $CaCl_2$. In allen übrigen Experimenten verwendeten wir ausschließlich isosmotische Lösungen.

3. Meßschaltung

In unserer Versuchsanordnung ist N_2 , über dessen Eigenschaften unsere Messung Auskunft geben soll, lediglich Bestandteil des Gesamtapparates, das außer N_2 zumindest die anhängenden Internodien mit den Nachbarschnürringen N_1 und N_3 enthält. Für stationäre elektrische Messungen stellen die Internodien neben R (auch R_S), dem Membranwiderstand des Schnürrings N_2 , einen zusätzlichen Bahnwiderstand und einen Nebenschlußwiderstand dar. Der Bahnwiderstand besteht nach dem Ersatzschaltbild, Abb. 7, aus den Axonwiderständen R_A bzw. R'_A und den Widerständen der Nachbarschnürringe R_{N1} und R_{N2} , der Nebenschlußwiderstand aus dem Widerstand der leitenden Oberfläche der Internodien im Luftspalt, R_n bzw. R'_n . In der folgenden Darstellung des Meßprinzips gehen wir zunächst lediglich auf die Bedeutung von R_A (stellvertretend für $R_A + R_{N1}$) für die Messung des negativen Widerstandes von N_2 ein. Der Einfluß von R_n auf die Messung wird im Abschnitt Meßkritik gesondert besprochen.

R_A beträgt $\approx 30 M\Omega$ (siehe auch STÄMPFLI 1952). Es sei vorweggenommen, daß im fallenden Teil der Kennlinie

$$|R_S| < |R_A|$$

R_S kann also mit der einfachen Schaltung (Abb. 4) nicht gemessen werden, denn die Bedingung: eingeprägte Spannung, läßt sich wegen des hohen Bahnwiderstandes nicht erfüllen, da R_A als Bestandteil des Präparates zwangsläufig als fester Betrag in R_B enthalten ist.

Durch Verwendung eines operativen Verstärkers, der zusammen mit dem Präparat einen Regelkreis darstellt, ist es möglich, eine "wirksame" Arbeitsgerade zu erzeugen, die steiler ist als $-R_A$.

In dem Prinzipschaltbild (Abb. 6) der von uns entwickelten Meßanordnung (BALK und MÜLLER-MOHNSEN 1962, 1966) ist A ein Differential-Gleichspannungsverstärker mit dem Leerlauf-Verstärkungsfaktor μ . Das Präparat besteht aus den Schnürringen $N_1 - N_2 - N_3$ und den Internodien R_A bzw. R'_A .

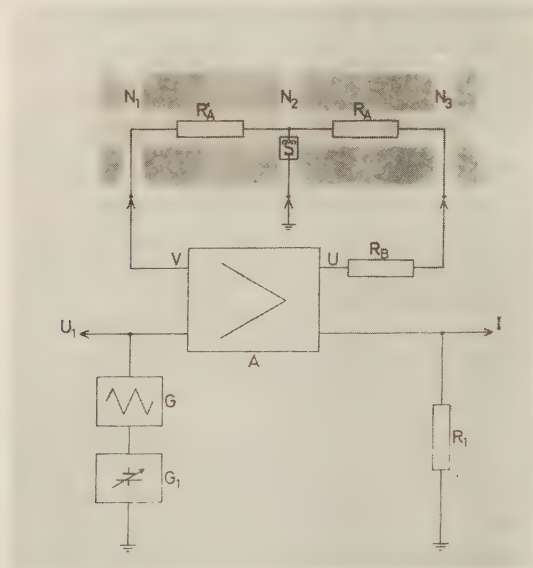


Abb. 6 Blockschema der Meßanordnung zur stationären Einprägung der Spannung am Schnürring. Der Regelkreis besteht aus dem Präparat (N_2 mit dem Widerstand S , den Nachbarschnürringen N_1 , N_3 , den Axonwiderständen der Nachbarinternodien R_A bzw. R'_A) sowie der elektronischen Meßeinrichtung mit dem Operationsverstärker A , dem Funktionsgenerator G und dem Gleichspannungsgenerator G_1 . V Präparatsspannung, U Sollspannung am Eingang des Verstärkers; U Spannung am Verstärkerausgang, R_B Bahnwiderstand der Meßapparatur ($R_B \ll R_A$), R_1 Meßwiderstand für I .

V ist die Spannung von N_2 gegenüber N_1 , U_1 die Abtastspannung (Sollspannung) und U die Spannung am Ausgang des Verstärkers $U = -\mu (V_{N2} - V_{N1})$. In dieser Schaltung gilt für die Fälle

$$\begin{aligned} I &= 0; \quad V_{N2} = U \\ V_{N2} &= 0; \quad I = U/R_B^* \end{aligned} \quad \text{wenn } R_B^* = R_B + R_A$$

Da $\Delta U = -\mu V_{N2}$

wirkt für Änderungen ΔV_2 eine Arbeitsgerade mit der Steigung

$$\frac{\Delta V_{N2}}{\Delta I} = \frac{R_B^*}{\mu} = R_{i \text{ eff}}; \quad (7)$$

diese ist umso größer, je größer der Verstärkungsfaktor μ des Verstärkers A ist. Diese Betrachtung gilt selbstverständlich nur, wenn die Zeitkonstante RC der Apparatur klein ist gegenüber der des Schnürrings ($\tau_S = R_S \cdot C_S$).

Die Funktion dieser Meßeinrichtung ist in Worten folgende:

Differential-Gleichspannungsverstärker A und Nervenfasern mit den Schnürringen N_1 - N_2 - N_3 bilden zusammen ein Regelsystem, das die Spannungsdifferenz zwischen den Membranen von N_1 und N_2 auf dem Wert U_1 festhält. Da der Referenz-Schnürring N_1 nicht strombelastet wird, bleibt er auf Ruhepotential. Der zum Festhalten der Spannungsdifferenz erforderliche Strom erzeugt am Widerstand R_1 einen proportionalen Spannungsabfall, der dem y-Eingang eines x-y-Schreibers zugeführt wird. Am x-Eingang liegt die Spannung U_1 . U_1 entsteht an einer Reihenschaltung von zwei Generatoren G_1 und G . G_1 liefert eine kontinuierlich einstellbare Gleichspannung insbesondere zur Kompensation auf das Ruhepotential des Schnürrings bzw. zur Einstellung einer beliebigen stationären Gleichspannung, z.B. Fußpunktspannung des AP. G ist ein Meßspannungsgenerator, der wahlweise eine Rechteck-, Sinus- oder Dreieckförmige Abtastspannung variierbarer Anstiegssteilheit dV/dt und Amplitude liefert. Die Geräte, aus denen der Regelkreis besteht, sollen im Folgenden näher beschrieben werden.

1. Der Verstärker A. A ist ein Gleichspannungs-Differential-Rechenverstärker (Philbrick P2 bzw. P2A) mit einem Leerlauf-Verstärkungsfaktor μ von $1,5 \cdot 10^5$. Der Eingangswiderstand R_1 beträgt $1 \cdot 10^{10} \Omega$, die Leerlaufzeitkonstante $\tau^0 = 5 \text{ sec}$, der Ausgangswiderstand $= 10 \text{ k}\Omega$. Eine kapazitive Gegen-

kopplung verhindert Selbsterregung durch Phasendrehung am Eingangs-RC-Glied. Der Verstärker wird aus Batterien betrieben. Die angegebenen Werte gelten für P2A. Eine gegen die Zeitkonstante τ (bei einem Präparatwiderstand von $100 \text{ M}\Omega$, $\tau \approx 5 \cdot 10^{-2} \text{ sec}$) kleine Änderungszeit Δt , in der sich V an der Membran des Schnürrings N_2 um ΔV ändert, ergibt am Verstärkerausgang eine Spannungsänderung.

$$\Delta U = \Delta V \cdot \frac{\mu \cdot R_1}{R_A + R_1} \quad (8)$$

(R_A Axonwiderstand zwischen N_1 und N_2).

Dadurch erfolgt eine Stromänderung von

$$\Delta I_a = \frac{\Delta U}{R_{N1} + R_{B^*} + R_A + R_S} \approx \frac{V \cdot \mu}{R_A + R_S} \quad (9)$$

Das ergibt für die Steigung der Arbeitsgeraden R_{B^*} , d.h. für den effektiven inneren Widerstand $R_{i \text{ eff}}$ der Meßspannung an N_2

$$R_{i \text{ eff}} \approx \frac{R_A + R_S}{\mu} \quad (10)$$

Für $R_A + R_S = 10^8 \Omega$ ist $R_{i \text{ eff}} \approx 700 \Omega$, für niederohmigere Präparate ist $R_{i \text{ eff}}$ noch kleiner. Der tatsächlich auftretende effektive Widerstand ist höher, da bei obiger Betrachtung der Nebenschluß im Luftspalt nicht berücksichtigt ist. Wenn man den Nebenschluß betrachtet, wird die Darstellung komplizierter. Die sehr ungünstige Abschätzung des Nebenschlußwiderstandes $R_n = R_A$ bedeutete, daß $R_{i \text{ eff}} \approx 1,4 \text{ k}\Omega$. In unserer Anordnung war jedoch $R_{i \text{ eff}} < 1,4 \text{ k}\Omega$, also klein gegen R_S , da stets $R_n > R_A$. Solange $R_{i \text{ eff}} < R_S$, ist die Spannung eingepreßt. Bei einer Kontrollmessung konnten daher auch keine Unterschiede zwischen den Spannungen V und U_1 festgestellt werden.

2. Der Generator G_1 . G_1 liefert eine mit einem zehngängigen Potentiometer einstellbare Gleichspannung. Die Schaltung entspricht im Prinzip den üblichen "Eichspannungsgeneratoren". Die Spannung von G_1 dient zum Abgleich auf Spannungsgleichheit zwischen U_1 und V vor Beginn der Messung, sowie zur Messung des Potentials von N_2 gegenüber N_1 durch Kompensation. Dazu wird der Ausgang des Verstärkers A von N_3 abgeschaltet und stattdessen mit

einem empfindlichen Nullinstrument ($100 \mu\text{A}$) verbunden. Gleichzeitig verkleinert eine dann wirksam werdende Gegenkopplung den Verstärkungsfaktor von A.

3. Der Meßspannungsgenerator G. Zur Abtastung mit einem Dreiecksverlauf der Meßspannung wurde, insbesondere für Untersuchungen mit linearem Anstieg der Meßspannung und veränderlicher Abtastzeit, ein Funktionsgenerator (Exakt, Type 225) verwendet. Ein spezieller Abschwächer am Ausganger ermöglichte eine getrennte, reproduzierbare Einstellung der positiven und negativen Meßspannungsamplitude und der Größe des Abtastbereiches.

4. Die Registriereinrichtung. Zur Registrierung von Strom und Spannung diente ein 2-Komponentenschreiber von Electro-Instruments Typ 400 mit x- und y-Verstärker Typ 421, bzw. die Oszillographen Tectronix Typ 549, 564 und 502 A.

D. Meßkritik

Sieht man von den äußerst kleinen statistischen Meßfehlern ab, die durch die elektronische Meßapparatur entstehen, so bleiben noch statistische und systematische Fehlerquellen übrig, die zwangsläufig durch das Präparat selbst und durch die spezielle Anschlußtechnik der elektronischen Meßeinrichtung an das Präparat entstehen. Die Hauptfehlerquelle systematischer Art, die durch die Luftspaltmethode bedingt ist und diskutiert werden muß, wenn man die Messung am Gesamtpräparat als eine Messung an der Membran interpretieren will, sind die Nebenschlußwiderstände im Luftspalt.

Das Internodium, welches den Luftspalt überbrückt, ist stets von einem elektrolythaltigen Flüssigkeitsfilm überzogen, der sich wegen der Benetzbarkeit der Faseroberfläche von den Trögen zum Mittelröhrchen spannt. Die völlige Austrocknung dieses Flüssigkeitsfilms würde eine Austrocknung der Faser und damit deren Zerstörung bewirken. Dieser Flüssigkeitsfilm bildet den somit prinzipiell nicht zu beseitigenden Nebenschlußwiderstand R_n bei der Messung am Luftspalt.

In der vereinfachten Ersatzschaltung des Präparates (Abb. 7) sind A, B und C die elektrischen Anschlußpunkte am Präparat. R_A und R_n , sowie R'_A und R'_n seien als stromunabhängig angenommen.

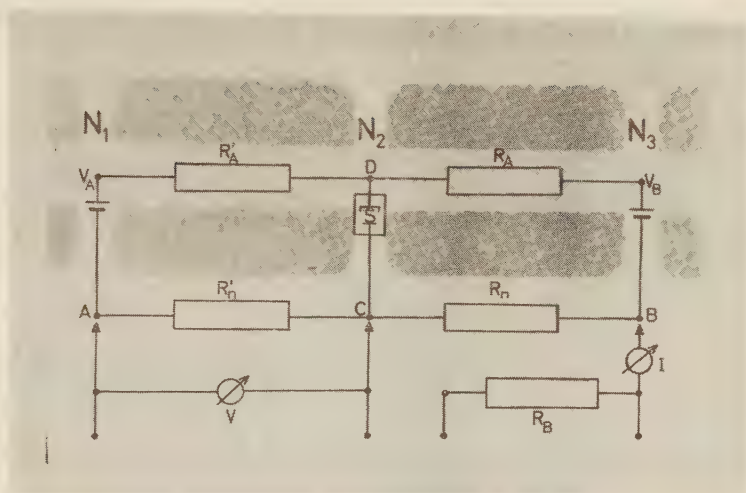


Abb. 7 Vereinfachtes Ersatzschaltbild des Präparates zur Analyse der durch die Nebenschlußwiderstände R_n bzw. R'_n bedingten Meßfehler bei der stationären Messung von I und V . C D, "Klemmen des Schnürrings". A C Anschlußpunkte für die Spannungsmessung; B für die Strom-Messung. V_A , V_B Spannungen der Nachbarschnürringe N_1 bzw. N_3 . Erläuterung siehe Text.

V_{N1} und V_{N2} sind die Ruhepotentiale der Nachbarschnürringe. Ferner wird das Präparat in bezug auf die Widerstände im Internodium als symmetrisch angenommen:

$$R_A = R'_A$$

$$R_n = R'_n$$

Anhand des Ersatzschaltbildes (Abb. 7) läßt sich unsere Messung folgendermaßen beschreiben: beabsichtigt ist die Messung von

$$I_{CD} = I_{CD}(V_{CD});$$

tatsächlich aber wird gemessen

$$I = I(V_{AC}).$$

Über die Durchführung der Korrektur sei an dieser Stelle nur folgendes erwähnt (näheres bei ALBRECHT-BÜHLER 1967): die Korrekturgleichung der Spannung lautet

$$V_{CD} = \frac{R_A + R_n}{R_n} V_{AC} - V_A \quad (11)$$

Schätzwerte für R_n , bei einer Länge des Internodiums im Luftspalt von 1 mm liefert

$$R_n = \frac{30}{d} [M\Omega]$$

(d: Dicke der leitenden Schicht an der Oberfläche des Internodiums in μm)

Wenn wir annehmen, daß bei 40-50 % rel. Luftfeuchtigkeit

$$d = \frac{1}{5} \text{ bis } \frac{1}{10} \mu,$$

so betrüge R_n 150 bis 300 $M\Omega$.

Weiter gilt für den Strom

$$I_{CD} = \frac{R_n}{R_A + R_n} I - \frac{2V_{AC}}{R_n} + \frac{V_A + V_B}{R_A + R_n} \quad (12)$$

I) und II) würden bei Kenntnis von R_A , R_n die Korrektur der gemessenen Kurven liefern; beide Werte sind jedoch prinzipiell nicht exakt meßbar. Um den Einfluß des Nebenschlußwiderstandes dennoch diskutieren zu können, schreiben wir

$$V_{CD} = f \cdot V_{AC} - V_A \quad (11a)$$

$$I_{CD} = \frac{I}{f} - \frac{2V_{AC}}{R_A + R_n} f + \frac{V_A + V_B}{f R_n} \quad (12a)$$

$$(f = \frac{R_A + R_n}{R_n} > 1; \text{ im Mittel } \frac{10}{7} \text{ bei } R_n \approx 250 M\Omega)$$

I') besagt, daß die wahre Spannung an der Membran V_{CD} , bis auf die konstante Verschiebung von V_A , $f \cdot V_{AC}$ ist, (wo $f > 1$) also größer ist als die gemessene.

II') besagt, daß der Strom zu groß gemessen wird, wobei der Fehler wie $\frac{1}{f}$ geht. Der zweite Term spielt erst für kleine Ströme bzw. große R_S ($I \approx 1 \cdot 10^{-9}$ A) eine merkliche Rolle.

Es sei vorweggenommen, daß wir die gemessenen Kurven durch eine Arbeitsformel beschreiben können. Um aus den Rechnerkurven, die den gemessenen Kurven entsprechen, die "wahren" Kurven zu erhalten, müssen wir die Zahlenwerte folgender Parameter der Arbeitsformel nach I und II korrigieren; wird der 2. Term von Gleichung II vernachlässigt, so erhalten wir folgende Korrekturvorschrift:

$$\alpha_{\text{wahr}} = \frac{\alpha}{f}$$

$$R_{II \text{ wahr}} = f^2 R_{II}$$

$$R_I \text{ wahr} = f^2 R_I$$

$$V_{mG \text{ wahr}} = f \cdot V_{mG} \quad (\text{s. Abschnitt 2b, 1. Teil d. Ergebnisse})$$

Da die Ströme im Bereich von R_I (Widerstand des hochohmigen Astes) etwa $1 \cdot 10^{-9}$ A sind, gewinnt der 2. Term der Gleichung in diesem Kennlinienabschnitt einen merklichen Einfluß. So ist die vereinfachte Korrektur nicht mehr ausreichend, wenn der Betrag von R_I mit dem von R_{II} verglichen, beispielsweise aus dem Quotienten $D = R_I/R_{II}$, i.e. der gemessenen Gleichrichterwirkung, $D_{\text{wahr}} = R_{I\text{wahr}}/R_{II\text{wahr}}$, i.e. die wahre Gleichrichterwirkung, ermittelt werden soll. Der Einfluß des Nebenschlußwiderstandes auf die Gleichrichterwirkung wird aus den Gleichrichterdiagrammen eines ruhenden Schnürrings (Abb. 9) erkennbar. Das Gleichrichterverhältnis D verändert sich von 5 auf 10, wenn der Flüssigkeitsfilm auf der Faseroberfläche im Luftspalt durch einen Luftstrom (2 m/sec) ausgetrocknet, d.h. wenn bei unverändertem Schnürring R_n erhöht wird.

Nach ALBRECHT-BÜHLER (1967) ist:

$$R_{Ig} = \frac{R_{Iw} \frac{R_n^2}{(R_A + R_n)^2 + 2 R_{Iw} (R_A + R_n)}}{R_{IIw} \frac{R_n^2}{(R_A + R_n)^2 + 2 R_{IIw} (R_A + R_n)}} \quad \text{oder} \quad D_g = D_w \frac{R_A + 2 R_{IIw} + R_n}{R_A + 2 R_{Iw} + R_n} < D_w \quad (12d)$$

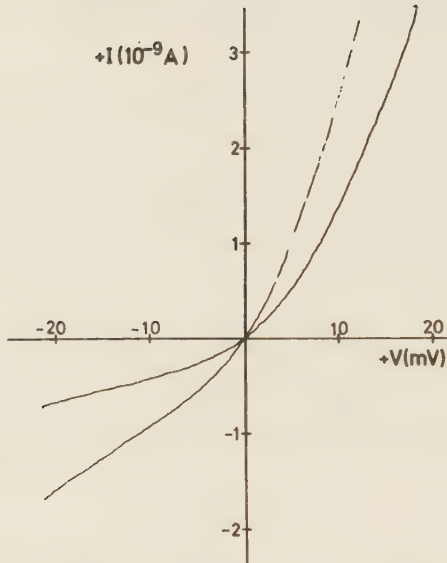


Abb. 8 Einfluß einer Änderung des Betrages von R_{II} auf die gemessene Gleichrichtercharakteristik eines Schnürrings (Originalregistrierung Schnürring 277/65)
 Ordinate I , Membranstrom; Abszisse V , Abweichung der Spannung vom Ruhepotential. Beginn des Experiments: niederohmige Gleichrichtercharakteristik $R_I = 27,5 \text{ M}\Omega$, $R_{II} = 5,5 \text{ M}\Omega$; Gleichrichterwirkung (R_I/R_{II}) = 5,5. Nach Antrocknung des Flüssigkeitsfilms an der Faseroberfläche und somit Anstieg des Nebenschlußwiderstandes: $R_I = 65 \text{ M}\Omega$, $R_{II} = 6,3 \text{ M}\Omega$, Zunahme von R_I/R_{II} auf 10,3.

Zusammengefaßt: Wegen des bei der Luftspaltmethode unvermeidlichen Nebenschlusses ist der Meßstrom größer als der Membranstrom, die Meßspannung kleiner als die Membranspannung. Dadurch wird die gemessene Strom-Spannungscharakteristik etwas verzerrt und erscheint zu niederohmig. Die in unserer Arbeit angegebenen Strom-, Spannungs- und Widerstandswerte sind die direkt aus der gemessenen und unkorrigierten Kennlinie entnommenen.

Um die gemessenen Kennlinien direkt miteinander vergleichen, bzw. die 'wahren' Kennlinien aus den gemessenen durch Korrektur mit einem einheitlichen Faktor erhalten zu können, haben wir den Nebenschlußwiderstand konstant zu halten versucht. Da der Nebenschlußwiderstand hauptsächlich von der

rel. Luftfeuchtigkeit abhängt, haben wir diese durch Raumklimatisierung in dem für den Zustand des Präparates und für die Messung optimalen Bereich zwischen 40 und 50 % bei Raumtemperaturen von 20-25°C gehalten. Wenn sich die rel. Luftfeuchtigkeit ändert, so verändert sich zusammen mit R_n durch Quellung bzw. Austrocknung auch R_A . Bei Werten über 65 % rel. Luftfeuchtigkeit nahmen R_A und R_n derart ab, daß - entsprechend Gleichung (12d) - Unterschiede in der Neigung von R_I und R_{II} nicht mehr meßbar waren. Bei einer rel. Luftfeuchtigkeit unter 30 % dagegen wurde die Neigung der Arbeitsgeraden $\frac{R_A + R_S}{\mu}$ kleiner als die des bei 80 mM/l $[K^*]_a$ auftretenden negativen Widerstandes, so daß die Spannung in diesem Kennlinienbereich nicht mehr eingeprägt werden konnte.

III. Ergebnisse

1. Teil der Ergebnisse

Das stationäre Strom-Spannungsverhalten des Schnürrings

A. Vorbemerkungen: Begriff der "stationären" Messung

Die stationäre Messung einer Strom-Spannungsbeziehung ist im strengen Sinn der Definition von "Stationär" nur für ein Wertepaar möglich, wenn eine unendlich lange Meßdauer zur Verfügung steht. Die Registrierung einer Kennlinie erfordert aber die Messung einer möglichst großen Zahl zugeordneter Strom-Spannungswerte, also eine Veränderung der unabhängigen Meßgröße V nach der Zeit (Abtastung, dV/dt), schließt also die Eigenschaft "stationär" bei strengster Anwendung des Begriffes von vornherein aus.

Die Messung einer Kennlinie kann im besten Falle quasi-stationär sein, und zwar dann, wenn sich bei unveränderter unabhängiger Meßgröße, z.B. V , die abhängige, z.B. I , während einer endlichen Meßdauer nicht mehr ändert. Dies Kriterium wäre anwendbar auf eine Messung der Kennlinie mit vielen langdauernden Rechteckimpulsen verschiedener Amplituden, also auf eine Darstellung der Strom-Spannungsbeziehung durch eine Reihe von Meßpunkten. Als weitere Möglichkeit, eine Kennlinie zu messen, kommt eine kontinuierliche Abtastung in Betracht. Eine Messung durch kontinuierliche Abtastung mit eingepprägter Meßspannung können wir nur dann als quasi-stationär bezeichnen, wenn die differentielle Änderung der Meßspannung gegen jene Zeit vernachlässigt werden kann, in der der Einstellvorgang des Stromes am Meßobjekt abläuft.

Die Durchführung stationärer Messungen setzt daher die Kenntnis der dynamischen Eigenschaften des Meßobjektes voraus. In orientierenden Experimenten mußte daher zunächst festgestellt werden: 1. ob beim Schnürring eine diskontinuierliche Abtastung mit vielen Rechteckimpulsen oder eine kontinuierliche mit dreieckförmigem Meßspannungsverlauf, und 2. welche Dauer der Rechteckimpulse, bzw. welche Anstiegsgeschwindigkeit dV/dt der dreieckförmigen Meßspannung den Erfordernissen einer stationären Messung am besten gerecht wird.

B. Die Einstellungsgeschwindigkeit des stationären Arbeitspunktes der Membran bei einer punktförmigen Abtastung der Kennlinie

Zunächst wurde die an der Membran eingeprägte Spannung für die Dauer von 1-4 sec um einen konstanten Betrag verschoben. Dabei war die Änderungsgeschwindigkeit der Meßspannung dV/dt bis zum Erreichen dieses Betrages groß gegen die Dauer eines AP (Dauer des AP: 1 msec). Die Form dieser Meßspannungsänderung entspricht also einem "breiten Rechteck". Der bei dieser Änderung der Meßspannung auftretende Membranstrom wurde mit einem Oszillographen registriert.

Wird die Membranspannung von einem Wert im Bereich des niederohmigen Astes auf einen anderen Wert im Bereich des hochohmigen Astes verschoben, sinkt der Strom nach einer initialen Stromzacke von ca. 30 msec Dauer in ca. 300-500 msec auf seinen stationären Wert ab (Abb. 9).

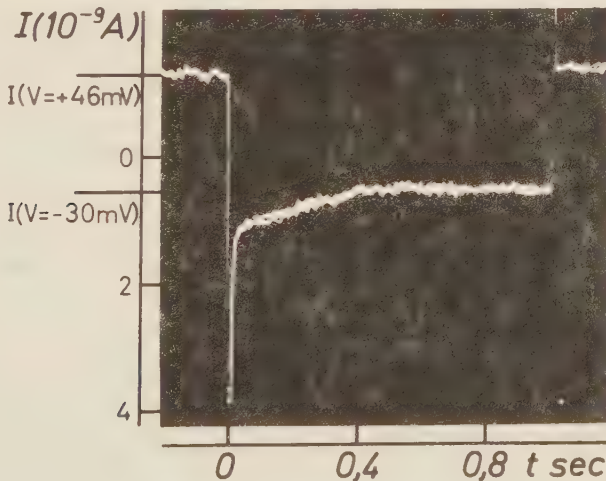


Abb. 9 Stromantwort eines Schnürrings auf rechtecksförmige Spannungsänderung zwischen +46 mV (Depolarisationsspannung bei 80 mM/ $[K^+]_a$, Bereich des niederohmigen Astes) und -30 mV (Bereich des hochohmigen Astes). Originalregistrierung, Schnürring No 387/67. Veränderung der Spannung in Depolarisationsrichtung: Strom stellt sich sofort ein. Veränderung der Spannung in Polarisationsrichtung: Strom stellt sich verzögert, d.h. erst nach 0,4 sec auf den stationären Wert ein.

Während Höhe und Dauer der ersten Stromzacke von der Steilheit dV/dt der Anstiegsflanke des Rechteckimpulses abhängig ist, also ähnlich wie ein Reiz-artefakt vor allem durch parallel zur Membran liegende Kapazitäten, bzw. durch direkte Einkopplung über Streukapazitäten in den Meßkreis bestimmt wird, ist die Stromänderung in der zweiten Einstellphase mit $0,3 - 0,4 \cdot 10^{-9}$ A in weiten Grenzen unabhängig von dV/dt der Rechteck-Anstiegsflanke. Die Dauer der 2. Einstellphase (ca. 400 msec) gibt also die Geschwindigkeit an, mit der sich der Arbeitspunkt auf der stationären Kennlinie einstellt. Sie gilt daher als Maß für die Einstellgeschwindigkeit des stationären Zustandes an der Membran. Die Einstellgeschwindigkeit ist bei unveränderter Kennlinie vom Spannungsbereich und von der Richtung der Spannungsänderungen abhängig. So ist die Einstellgeschwindigkeit bei einer Verschiebung des Arbeitspunktes vom hochohmigen auf den niederohmigen Ast wesentlich größer als im umgekehrten Fall (Abb. 9), ("delayed rectification").

Die Einstellgeschwindigkeit ändert sich mit der "Vitalität" des Präparates im Laufe des Experimentes. Sie nimmt mit zunehmender Dauer des Versuches ab, während sie nach einer elektrischen oder mechanischen Zerstörung der Membran (wegen starker Zunahme der Leitfähigkeit) natürlich stark zunimmt. Außerdem wird die Einstellgeschwindigkeit stark von äußeren Bedingungen beeinflusst. Einflüsse, die den Membranwiderstand erhöhen, setzen im allgemeinen die Einstellgeschwindigkeit herab. So z.B. SO_4 - und Acetylglycin-Ringer, Cholin-Ringer und isotonische Glucose-Lösung. Besonders stark wirkt in dieser Richtung auch Veratridin.

Aus folgenden Gründen haben wir für unsere Routinemessungen der Kennlinie indessen die kontinuierliche gegenüber der punktförmigen Abtastung vorgezogen:

1. wird die Membran durch die während der Rechteckimpulse auftretenden schnellen Spannungsänderungen geschädigt. 2. hängt die Einstellgeschwindigkeit des stationären Zustandes in komplizierter Weise vom Ausgangszustand (z.B. von der stationären Fußpunktspannung des Rechteck-Impulses) ab. 3. ist die kontinuierlich registrierte Kennlinie - da sich eine Interpolation zwischen einzelnen Meßpunkten erübrigt - besser auswertbar.

C. Abhängigkeit des Kurvenverlaufs von Abtastgeschwindigkeit und -richtung

Die kontinuierliche Registrierung der Kennlinie

Die stationäre Messung erfordert, daß die Anstiegssteilheit dV/dt der Meßspannung klein ist gegenüber den Anstiegssteilheiten der zeitabhängigen Prozesse an der Membran. Um Aufschlüsse darüber zu bekommen, welche Abtastgeschwindigkeiten diese Bedingungen erfüllen, wurden Diagramme mit unterschiedlicher dV/dt der Meßspannung und unterschiedlicher Abtastrichtung aufgenommen.

Für diese Messungen wurde als Verstärker (A im Regelkreis Abb. 6), statt des im Abschnitt "Methode" beschriebenen ein Verstärker verwendet, der aufgrund seiner kleineren Zeitkonstanten (Leerlaufzeitkonstante $\tau \approx 10 \text{ msec}$) eine verzerrungsfreie Abtastung der Kennlinie bis $dV/dt > 10^4 \text{ mV/sec}$ erlaubt. Dieser Verstärker wird in einer späteren Arbeit eingehend beschrieben. Die Kennlinie wurde mit einem dreieckförmigen Meßspannungsverlauf von negativen zu positiven Spannungen (dV/dt positiv), also in depolarisierender Richtung und umgekehrt (dV/dt negativ) in polarisierender Richtung abgetastet. Da ein Abtastbereich bis zu 100 mV erforderlich war, dauerte die Aufzeichnung eines Diagramms mit $dV/dt = 1 \text{ mV/sec}$ bis zu 100 sec. Eine noch wesentlich langsamere Abtastung führte zu einer Schädigung des Präparates durch Strombelastung, erkennbar an irreversiblen Veränderungen des Kennlinienverlaufs (die meist zu einer Abnahme der Gleichrichterwirkung D führen). Auch Abtastgeschwindigkeiten $dV/dt > 10^4 \text{ mV/sec}$ bewirkten irreversible Schäden des Präparates. Daher wurde die dV/dt in logarithmischen Stufen zwischen 1 und 10^4 mV/sec variiert.

In allen Aufzeichnungen änderte sich der Kurvenverlauf mit der Abtastrichtung. Bei den in Abb. 10 gewählten Größenverhältnissen der Aufzeichnung ist dieser Unterschied zwischen den Kurven derselben $|dV/dt|$, den wir als Hysterese bezeichnen (siehe Abschnitt Hysterese), besonders deutlich in den Registrierungen mit $dV/dt > 100 \text{ mV/sec}$ zu erkennen. Eine dV/dt von $+3000 \text{ mV/sec}$ im Bereich von +15 mV genügt bereits als Reiz zur Auslösung eines aktiven Einwärtsstromes (Abb. 10b). Die Hysterese wird zwar mit abnehmender dV/dt kleiner, bleibt jedoch auch bei 1 mV/sec noch nachweisbar. Die Membran besitzt demnach auch für Anstiegsgeschwindigkeiten, die sehr

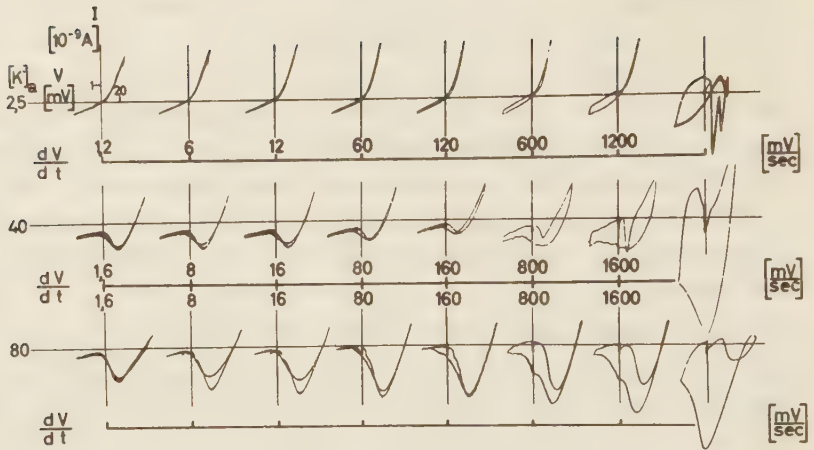


Abb. 10 Abhängigkeit der Hystereseseform von der Abtastgeschwindigkeit dV/dt der Meßspannung für 2,5, 40 und 80 mM/l $[K^+]_a$ (Originalregistrierung; Schnürring 385/66 für 2,5 und 40 mM/l $[K^+]_a$; Schnürring 386/66 für 80 mM/l $[K^+]_a$)

a) Verschiedene Abtastgeschwindigkeiten zwischen 1,2 und 6000 mV/sec (2,5 mM/l $[K^+]_a$) bzw. 1,6 und 8000 mV/sec (80 mM/l $[K^+]_a$). In den Gleichrichterkennlinien bei 2,5 mM/l $[K^+]_a$ wird die obere Begrenzung der Hystereseschleife im linken Abschnitt durch die in positiver Richtung (nach rechts), im rechten Teil durch die in negativer Richtung (nach links) abgetastete Kennlinie gebildet. Die Überschneidung entsteht durch Na^+ -Einwärtsströme ("Aktionsströme") bei $dV/dt > +3000$ mV/sec. In den Kennlinien bei 40 und 80 mM/l $[K^+]_a$ erreicht die in positiver Richtung bis $dV/dt \approx +80$ mV/sec abgetastete Kennlinie nach Überschneidung den größeren Maximalstrom. Bei $dV/dt \approx 160$ mV/sec sind die Maximalströme in beiden Abtastrichtungen gleichgroß. Bei $dV/dt > 160$ mV/sec wird die obere Begrenzung der Hystereseschleife durch die in positiver Richtung abgetastete Kennlinie gebildet. Ausgeprägter Na^+ -Einwärtsstrom bei 40 mM/l $[K^+]_a$ und $dV/dt = +1600$ mV/sec.

b) Gleiches Experiment wie 10a. Abtastgeschwindigkeiten zwischen 1200 und 6000 mV/sec bzw. zwischen 1600 und 8000 mV/sec in kleineren, linearen Stufen verändert. (Beachte die veränderte Abszissenskala.)

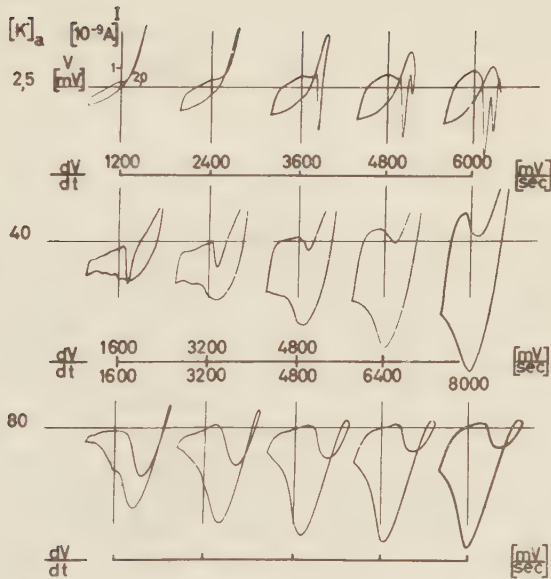


Abb. 10b

klein sind gegenüber denen eines normalen AP, noch Eigenschaften, die von der zeitlichen Ableitung dV/dt abhängen.

Ein Vergleich der Kurven (Abb. 10) zeigt, daß sich die in positiver Abtastrichtung aufgenommenen Kurven bei $dV/dt < 100$ mV/sec stärker mit der Anstiegsgeschwindigkeit ändern, als die in negativer Richtung aufgenommenen Diagramme. Bei $dV/dt < 3$ mV/sec ändern sich nur noch die in positiver Richtung aufgenommenen Diagramme geringfügig mit der dV/dt , während die in negativer Richtung aufgenommenen keine Abhängigkeit des Kurvenverlaufs von der dV/dt mehr zeigen.

Auf der mit einer Änderungsgeschwindigkeit $dV/dt < -3$ mV/sec abgetasteten Kennlinie kann jeder beliebige Arbeitspunkt - auch im Bereich des negativen Widerstandes - mehrere Minuten mit konstanter, eingepprägter Spannung festgehalten werden.

Da also offenbar keine Zeitabhängigkeit des Kurvenverlaufs mehr besteht,

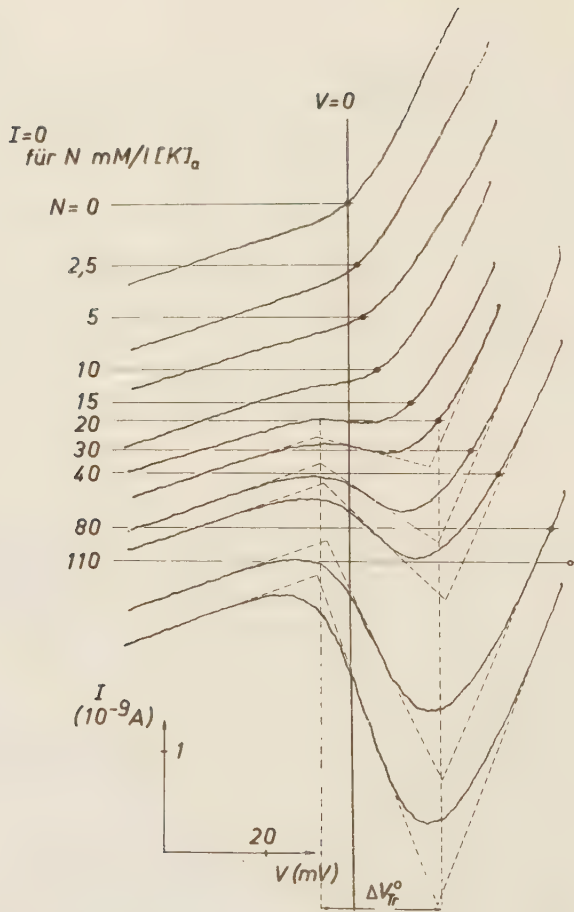


Abb. 11a Schar stationärer Strom-Spannungskennlinien; Abhängigkeit des Kurvenverlaufs von $[K^+]_a$ (Scharparameter). Originalregistrierung, Schnürring 275/65. Abszisse: Membranspannung V , Abweichung vom Ruhepotential in mV . Ordinate: Membranstrom I , Auswärtsstrom positiv. Nullpunkte der einzelnen Kennlinien sind auf der gemeinsamen Ordinate in logarithmischem Maßstab nach $[K^+]_a$ angeordnet. Zwischen den senkrechten gestrichelten Linien: Übergangsbereich (ΔV_{Tr}^0). Im Hyperpolarisationsbereich: hochohmiger Ast R_I . Im Depolarisationsbereich: niederohmiger Ast R_{II} . Bei $[K^+]_a > 20 \text{ mM/l}$ liegt R_{II} im Depolarisationsbereich oberhalb ΔV_{Tr} . Zwischen R_I und R_{II} liegt nun der Übergangsst R_{Tr} negativ differentiellen Widerstandes.

können die in Polarisationsrichtung aufgenommenen Kennlinien als quasistationär, oder kurz stationär bezeichnet werden, wenn die Abtastgeschwindigkeit $dV/dt < -3 \text{ mV/sec}$. Diese quasistationären Meßbedingungen werden, da sie stationäre Kennlinien liefern, der Einfachheit halber in den folgenden Darstellungen ebenfalls als stationär bezeichnet.

D. Die stationäre Kennlinie und ihre Abhängigkeit von der $[K']_a$

Abb. 11a stellt eine Schar stationärer Strom-Spannungs-Kennlinien des Ranvier-Knotens in Abhängigkeit von der $[K']_a$ als Scharparameter dar. Bei einer $[K']_a < 2,5 \text{ mM/l}$ verschiebt sich das Membranpotential gegenüber dem Ruhepotential in negativer Richtung, d.h. es tritt eine Hyperpolarisation ein. Bei $[K']_a > 2,5 \text{ mM/l}$ dagegen verschiebt sich das Membranpotential in positiver Richtung, die Membran wird depolarisiert. Zwischen 0 und 20 mM/l $[K']_a$ wird das Membranpotential nicht ausschließlich von der $[K']_a$ bestimmt (HUXLEY und STÄMPFLI 1952, STÄMPFLI 1958, SCHMIDT 1965, weitere Literatur). Zwischen 20 und 110 mM/l $[K']_a$ überwiegt der Einfluß des K' -Konzentrationsgradienten auf das Membranpotential. Die Membran verhält sich ähnlich wie eine K' -Elektrode, d.h. das Membranpotential stellt sich auf einen Wert nahe dem NERNST-Potential, E_K , für den betreffenden K' -Konzentrationsgradienten ein (HUXLEY und STÄMPFLI 1952). In diesem Konzentrationsbereich ändert sich die Depolarisationsspannung daher linear mit dem Logarithmus des Scharparameters $[K']_a$, d.h. die Linie, die die Membranpotentiale (Spannungswerte für $I = 0$) in den Kennlinien miteinander verbindet, ist in der Darstellung der Abb. 11a eine Gerade.

Die Kennlinie des Schnürrings bei 0-5 mM/l $[K']_a$ besteht aus 2 Ästen unterschiedlicher Neigung: einem hochohmigen Ast im 1. Quadranten und einem niederohmigen Ast im 3. Quadranten des Diagramms. Diese Äste positiven Widerstandes, aus denen sich die Gleichrichtercharakteristik des "ruhenden" Schnürrings zusammensetzt, behalten annähernd die gleiche Neigung auch bei $[K']_a > 10 \text{ mM/l}$. Sobald jedoch eine K' -Depolarisation auftritt, beobachten wir statt der einfachen Krümmung einen Kurvenabschnitt mit einem Wendepunkt zwischen den beiden Ästen des Gleichrichterdigramms. Der differentielle Widerstand (Neigung der Wendetangente) in diesem Kurvenabschnitt ist positiv, wenn die $[K']_a$ kleiner ist als $\approx 15 \text{ mM/l}$. Bei $\approx 15 \text{ mM/l}$ wird er

unendlich, bei $[K^+]_a > 15 \text{ mM/l}$ schließlich negativ und nimmt mit zunehmender Depolarisation stark ab.

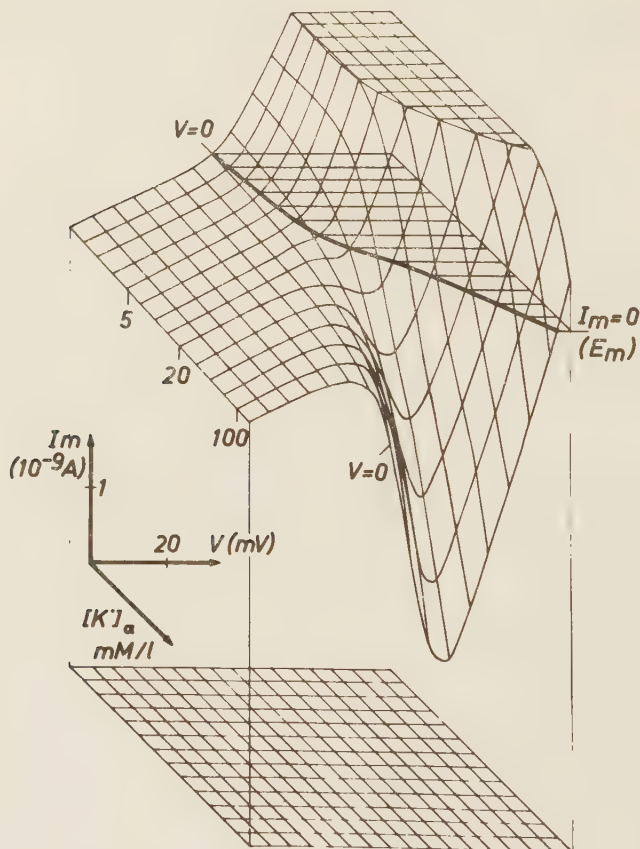


Abb. 11b Schar stationärer Strom-Spannungs-Kennlinien mit $[K^+]_a$ als Scharparameter. (Schnürring 274/65) Dreidimensionale Darstellung ergibt die Zustandsfläche für alle stationären Strom-Spannungswerte des angegebenen $[K^+]_a$ - und Spannungsbereichs. z-Achse: $\log [K^+]_a$, Ordinate: Membranstrom; Abszisse wie Abb. 11a.

In perspektivischer Aufzeichnung stellt die Kurvenschar eine Zustandsfläche des stationären Strom-Spannungsverhaltens für $[K^+]_a$ von 0-110 mM/l dar, d.h. auf dieser Fläche liegen alle stationären Arbeitspunkte der Membran bei Spannungen zwischen +50 und -40 mV dar (Abb. 11b).

E. Detail-Beschreibung der Kennlinien

1. Die Substitutionscharakteristik

Zum Zweck einer vereinfachten Beschreibung teilen wir die Strom-Spannungscharakteristik des RANVIER-Knotens - beim depolarisierten Schnürring eine Kurve 3. Grades - in 3 Abschnitte ein. Diese Abschnitte sind Spannungsbe-
reiche und werden in den Kurven der Abb. 11 in der Reihenfolge von links nach rechts mit den Symbolen I, Tr und II gekennzeichnet. Den in Abschnitt I gelegenen Teil der Kurve bezeichnen wir als den hochohmigen, den in Abschnitt II gelegenen als den niederohmigen Ast. Diese Äste positiven Widerstandes sind die Kurvenabschnitte, aus denen die Gleichrichtercharakteristik des nicht-depolarisierten Schnürrings besteht. Nur während einer Depolarisation tritt zwischen Abschnitt I und II der Abschnitt Tr und der in ihm gelegene Übergangsst in Erscheinung.

Da die Strom-Spannungscharakteristik stets als stetige Kurve gemessen wird, ist der differentielle Widerstand $r = dV/dI$ an den Grenzen zwischen Tr und I bzw. Tr und II unendlich, da hier eine waagrechte Tangente existiert. Von diesen Extrema der Kurve aus, nimmt r nach allen Richtungen ab. Im Abschnitt I und II erreicht r für ausreichend große V einen konstanten Wert (Abb. 12). Im Abschnitt Tr durchläuft r ein Minimum und zwar im Wendepunkt des Übergangsstes. Der kleinste in jedem Abschnitt vorkommende Absolutwert von r ist demnach repräsentativ für den Widerstand des betreffenden Astes und wird daher als "repräsentativer Widerstand" R^0 bezeichnet. Die Beträge der repräsentativen Widerstände kennzeichnen zusammen mit dem Wert des Membranpotentials den Verlauf einer stationären Strom-Spannungs-Charakteristik des Schnürrings in seinen wesentlichen Eigenschaften vollständig.

Die Einführung des Begriffes repräsentativer Widerstand erlaubt nicht nur eine vereinfachte Beschreibung der Kennlinien, sondern hat vor allem eine praktische Bedeutung für die Auswertung der Kurven. Da die Äste positiven

Widerstandes nur in einem kleinen Spannungsbereich gekrümmten, im übrigen jedoch geradlinigen Verlauf zeigen, kann der Betrag der Widerstände mit einem Winkelmeßgerät direkt aus den Kurven bestimmt werden. Die Krümmung des Übergangsstes ist nahe seinem etwa in der Mitte des Verlaufs gelegenen Wendepunktes über eine ausreichende Strecke sehr klein. Obwohl der Übergangsst keinen Abschnitt mit streng geradlinigem Verlauf zeigt, kann sein repräsentativer Widerstand auf ähnliche Weise bestimmt werden, indem das Lineal an der Strecke mit der maximalen Steigung angelegt wird (Wendetangente).

Um das Verhalten der repräsentativen Widerstände zu beschreiben, kann ein Diagramm aus drei Geraden gezeichnet werden, die in Lage und Neigung den drei repräsentativen Widerständen entsprechen. Man erhält auf diese Weise einen aus den drei linearen Ästen R_I^0 , R_{II}^0 und R_{Tr}^0 bestehenden Polygonzug (Abb. 14), der den Verlauf der gemessenen Kennlinie näherungsweise wiedergibt. Da dieser Polygonzug die gemessene Kennlinie durch Geradenstücke ersetzt, bezeichnen wir ihn als "lineare Substitutionscharakteristik". Alle im folgenden mit einem X^0 ¹ versehenen Werte (insbesondere seien genannt V^0 , I^0) beziehen sich auf die Substitutionscharakteristik. R_I , R_{II} und R_{Tr} , sowie V und I sind dagegen Werte der gemessenen Kennlinie.

a) Der hochohmige Ast R_I^0

Für hyperpolarisierende Meßspannungen $V < -20$ mV ist der gemessene hochohmige Ast $R_I = R_I^0$; er ist spannungsunabhängig ($r_I = \text{konst.}$, Abb. 12) und in seiner Neigung unabhängig von der Abtastrichtung. Mit zunehmender $[K^+]_a$ nimmt die Steigung von R_I geringfügig zu. Die Neigung bei 2,5 mM/l $[K^+]_a$ entspricht einem Betrag von 35 - 50 M Ω , gegenüber 20 - 40 M Ω bei 110 mM/l.

R_I^0 wird ebenso wie R_I bei $V \approx -90$ mV durch einen irreversiblen elektrischen "Durchschlag" (STÄMPFLI und WILLI, 1957) der Membran begrenzt, erkennbar an einer plötzlichen Abnahme des Membranwiderstandes auf ≈ 100 k Ω . Mit zunehmender $[K^+]_a$ tritt der Durchschlag schon bei etwas geringeren Spannungen ein.

Bei unverändertem oder nur wenig verändertem Ruhepotential ($[K^+]_a < 10$ mM/l) wird R_I^0 in Depolarisationsrichtung begrenzt durch den Schnittpunkt

¹ Auf die nach der int. math. Exponentenkonvention vorgeschriebene Schreibweise $X^{(0)}$ verzichten wir in diesem Manuskript.

mit R_{II}^0 , während einer Depolarisation dagegen durch den Schnittpunkt mit R_{Tr}^0 . Daher ist auch der Spannungswert, bei dem R_I^0 in positiver Richtung begrenzt wird, von der $[K^+]_a$ abhängig. Zwischen 0 und 5 mM/l $[K^+]_a$ liegt er bei +5 mV. Oberhalb 15 mM/l - außer einer bei 40 mM/l $[K^+]_a$ regelmäßig zu beobachtenden Verschiebung um 5 mV in Depolarisationsrichtung - bei -6 mV. Diese Grenze zwischen R_I^0 und R_{Tr}^0 ist gleichzeitig der Spannungswert des Strom-Minimums $V_{I \min}^0$. Nur in einem kleinen Konzentrationsbereich um 10 mM/l $[K^+]_a$ treten Zwischenwerte für den Endpunkt von R_I^0 zwischen +5 und -6 mV auf (in der Abb. 13 linksseitig aufgetragene Grenze von ΔV_{Tr}^0).

Die Lage von R_I und R_I^0 ändert sich mit der $[K^+]_a$ in der Weise, daß der verlängerte R_I bzw. R_I^0 die Abszisse jeweils nahe dem Gleichgewichtspotential V_m schneidet. Der Abszissen-Schnittpunkt des verlängerten R_I liegt jedoch nicht exakt im Membranpotential wie der von R_{II} . In der Kennlinie von Schnürringen mit unverändertem Ruhepotential liegt dieser Schnittpunkt bei 2 bis 7 mV, in der Kennlinie depolarisierter Schnürringe weicht er dagegen in negativer Richtung vom Membranpotential ab. Letztere Abweichung kann formal durch das Auftreten einer negativen Spannung erklärt werden, die sich der Depolarisationsspannung im Bereich R_I überlagert. Da diese angenommene Spannung das der Depolarisationsspannung entgegengesetzte Vorzeichen hat, wird die Abweichung im Folgenden als Gegenspannung V_{mG} bezeichnet. Obwohl die Beträge V_{mG} stark streuen, ist deren Zunahme mit zunehmender $[K^+]_a$ deutlich erkennbar. Bei 20 mM/l $[K^+]_a$ beträgt $V_{mG} \approx 10$ mV, bei 110 mM/l ≈ 30 mV.

b) Der niederohmige Ast R_{II}^0

Für Meßspannungen $V > +40$ mV ist $R_{II} = R_{II}^0$; er ist spannungsunabhängig ($R_{II} = \text{konst.}$, Abb. 12) und unabhängig von der Abtastrichtung. Diese Meßspannungen lassen sich allerdings nur während einer Depolarisation $V_m > 30$ mV einstellen, wenn man nicht in Kauf nehmen will, daß das Präparat durch zu große Strombelastung geschädigt wird. Bei Depolarisationsspannungen $V_m < 30$ mV wird R_{II} erst für Meßspannungen $V > +10$ mV, sofern sie außerhalb des Hysteresebereiches liegen, annähernd konstant. Im Hysteresebereich ist der Verlauf von R_{II} stets gekrümmt, so entsteht eine Abweichung des Abszissenschnittpunktes von R_{II}^0 gegenüber R_{II} (siehe bei Albrecht-Bühler 1967).

Die Neigung von R_{II} bzw. R_{II}^0 ist abhängig von $[K^+]_a$, jedoch wirft die Bestimmung dieser Abhängigkeit einige prinzipielle Schwierigkeiten auf. Die Messung des Widerstandes R_{II} von Kennlinien, die bei $[K^+]_a$ zwischen 0 und 30 mM/l, also bei kleinen Depolarisationsspannungen aufgenommen sind, ist schwierig, da sich im Bereich der Hystereseschleife kein geradliniger Verlauf einstellt. Wir haben es vermieden, Spannungswerte $V > +40$ mV, also größer als den Wert, bei dem der geradlinige Verlauf von R_{II} beginnt, während derartig kleiner Depolarisationsspannungen allein durch die Meßspannung einzustellen, denn - wie bereits erwähnt - schädigen die dabei auftretenden großen Membranströme das Präparat. Da der Betrag R_{II}^0 bei 2,5 mM/l $[K^+]_a$ hingegen stark in das Ergebnis der weiter unten dargestellten Berechnung von R_{Tr}^0 aus der Gleichrichtercharakteristik eingeht, haben wir versucht, die Genauigkeit durch Mittelwertbildung aus etwa 10 Messungen an der einzelnen Kurve zu erhöhen. Die Messung des Betrages von R_{II}^0 bei $[K^+]_a > 30$ mM/l aus den Kurven ist dagegen wegen des nunmehr geradlinigen Verlaufs wesentlich genauer.

Ein trotz der Unterschiede in der Genauigkeit durchgeführter Vergleich zwischen den Werten von R_{II} bei 0 bis 110 mM/l $[K^+]_a$ zeigt, daß der Betrag von R_{II} mit steigender $[K^+]_a$ abnimmt. Bei 0-5 mM/l $[K^+]_a$ beträgt $R_{II} \approx 10 \text{ M}\Omega$. Sobald eine Depolarisation auftritt, fällt dieser Wert ab und zwar auf 7-8 $\text{M}\Omega$ bei $V_m = +25$ mV, auf 6-7 $\text{M}\Omega$ bei $V_m = +50$ mV.

Für die im späteren Abschnitt E1d zu besprechende Berechnung von I_{min}^0 , I_{max}^0 und R_{Tr}^0 wurden die Abweichungen der R_{II}^0 -Werte bei verschiedenen Depolarisationsspannungen durch Multiplikation des R_{II}^0 -Wertes bei 2,5 mM/l $[K^+]_a$ mit dem Faktor 0,75 korrigiert. Eine Berücksichtigung der nichtlinearen Abnahme von R_{II}^0 mit zunehmender $[K^+]_a$, also eine Korrektur mit einem für jede Depolarisationsspannung eigens zu ermittelnden Wert, brachte keine wesentliche Zunahme der Genauigkeit.

R_{II}^0 wird ebenso wie R_{II} nach positiven Spannungen begrenzt durch den bei ≈ 150 mV auftretenden elektrischen Durchschlag. Die Grenze von R_{II} nach kleineren Spannungen ist von $[K^+]_a$ abhängig. Bei $K^+_a < 10$ mM/l schneiden sich R_I^0 und R_{II}^0 direkt. Die Grenze von R_{II}^0 fällt mit der von R_I^0 zusammen, liegt also wie diese bei +5 mV. Bei $[K^+]_a > 10$ mM/l schneiden sich R_I^0 und R_{II}^0 wegen des Auftretens von R_{Tr}^0 , der ja zwischen R_I^0 und R_{II}^0 gelegen ist, nicht mehr direkt. Stattdessen wird R_{II}^0 jetzt durch seinen Schnittpunkt mit

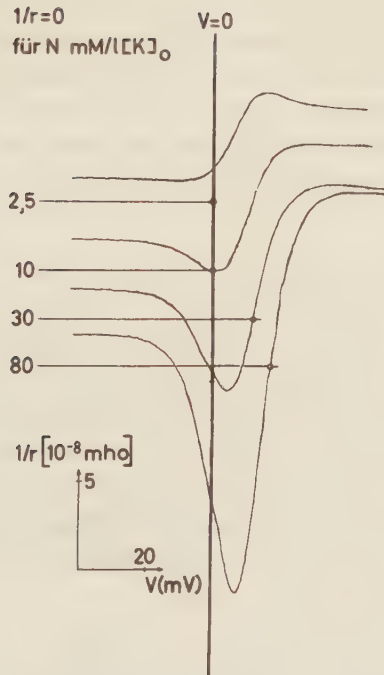


Abb. 12 Differentielle Leitfähigkeit dI/dV berechnet nach einer Schar stationärer Strom-Spannungskennlinien. Den dargestellten Analogrechnerkurven liegt die stationäre Kennlinienschar des Schnürrings 289/65, siehe Abb. 16, zugrunde. Abszisse: Membranspannung V , Abweichung vom Ruhepotential. Ordinate: differentielle Leitfähigkeit. Auf der gemeinsamen Ordinate sind die Nullpunkte der einzelnen Kurven in logarithmischem Maßstab nach $[K^+]_a$ angeordnet. Differentielle Leitfähigkeit im Bereich R_I und $R_{II}^a \approx \text{konst.}$, im Übergangsbereich (bei $[K^+]_a > 10 \text{ mM/l}$) negativ.

R_{Tr}^0 begrenzt. Dieser Schnittpunkt liegt im Bereich von +16 mV, wenn $[K^+]_a > 20 \text{ mM/l}$. Die Spannung des Schnittpunktes von R_{II}^0 und R_{Tr}^0 ist identisch mit dem Spannungswert des Strom-Maximums (V_{Imax}^0). Während V_{Imax}^0 im Konzentrationsbereich von 20-110 mM/l konstant ist - außer bei 40 mM/l $[K^+]_a$, hier liegt V_{Imax}^0 um 5 mV höher - treten bei 10-20 mM/l $[K^+]_a$ Zwischenwerte zwischen +6 und +16 mV auf (in der Abb. 13 rechts aufgetragene Grenze von ΔV_{Tr}^0).

Der Einfluß der $[K^+]_a$ auf Neigung, Linearität und Begrenzung von R_{II}^0 ist bei $[K^+]_a > 20$ mM/l vergleichsweise gering. Im Gegensatz dazu wird die Lage von R_{II}^0 im Strom-Spannungs-Diagramm maßgebend durch $[K^+]_a$ bestimmt. Der Schnittpunkt von R_{II} mit der Abszisse gibt den Wert der Depolarisationsspannung und damit das von der $[K^+]_a$ abhängige Membranpotential an. Da das Membranpotential bei $[K^+]_a > 30$ mM/l linear von $\log [K^+]_a$ abhängig ist, verschiebt sich der Abszissenschnittpunkt und damit die Lage von R_{II} bei $[K^+]_a$ 30-110 mM/l ebenfalls linear mit $\log [K^+]_a$ (Abb. 11).

c) Der Widerstand im Übergangsbereich R_{Tr}^0

Eine bei 2,5 mM/l $[K^+]_a$ und unverändertem Ruhepotential gemessene stationäre Kennlinie besteht ausschließlich aus den positiven Widerständen R_I und R_{II} , die zwischen -10 und +15 mV in Form einer einfachen Krümmung direkt ineinander übergehen. Der Schnittpunkt von R_I^0 und R_{II}^0 liegt bei +6 mV. Sobald bei $[K^+]_a > 5$ mM/l eine Depolarisation auftritt, gehen beide Äste positiven Widerstandes nicht mehr monoton ineinander über, sondern über einen Wendepunkt, d.h. die Steigung der Kurve wird im Anschluß an R_I flacher, bei höherem $[K^+]_a$ sogar ∞ oder negativ, ehe sie wieder positiv und steiler wird, um schließlich in R_{II} einzumünden. R_I^0 endet jetzt bei einem Spannungswert, der sich bis 15 mM/l $[K^+]_a$ mit zunehmender $[K^+]_a$ in Polarisationsrichtung verschiebt, die Grenze von R_{II}^0 verschiebt sich dagegen bis 20 mM/l $[K^+]_a$ in Depolarisationsrichtung. Bei $[K^+]_a > 20$ mM/l erreicht die Grenze von R_I^0 bzw. R_{II}^0 bei -6 mV bzw. +16 mV einen im Vergleich zum Abszissen-Schnittpunkt von R_{II} nur durch wenig $[K^+]_a$ beeinflussten Wert. Diesen zwischen -6 mV und +16 mV gelegenen Spannungsbereich bezeichnen wir als Übergangsbereich ΔV_{Tr}^0 (Abb. 13).

Da sich der Abszissenschnittpunkt von R_{II}^0 ebenso wie das Membranpotential mit zunehmender $[K^+]_a$ in Depolarisationsrichtung verschiebt, läuft R_{II} über den Abszissenschnittpunkt hinaus in den Einwärtsstrom-Quadranten weiter, ehe er an seiner Grenze zum Übergangsbereich endet. Er erreicht dabei natürlich umso größere Strom-Werte, je größer die Depolarisationsspannung und damit die Entfernung des Abszissenschnittpunktes von ΔV_{Tr}^0 ist. Auch an der Grenze von R_I^0 zum Übergangsbereich fließen Einwärtsströme, die ebenfalls mit $[K^+]_a$ zunehmen, da sich R_I mit zunehmender Depolarisationsspannung parallel zu größeren Stromwerten verschiebt. Jedoch bleibt diese

Zunahme der Einwärtsströme wesentlich geringer als die an der Grenze von R_{II}^0 zum Übergangsbereich.

Aus dieser Tatsache ergibt sich für die Neigung der Verbindungslinie zwischen den Punkten, an denen R_I^0 bzw. R_{II}^0 die Grenze des Übergangsbereichs schneidet, d.h. für die Wendetangente des Übergangswiderstandes R_{Tr}^0 folgende Abhängigkeit von $[K^+]_a$: Unterhalb 10 mM/l $[K^+]_a$ ist $R_{Tr}^0 > 0$. Wird $[K^+]_a$ auf 10 mM/l erhöht, - dem entspricht eine Depolarisation um 15 mV - so wird R_{Tr}^0 unendlich.

Bei 15 mM/l $[K^+]_a$ - mit der entsprechenden Depolarisation von 20 mV - wird der Einwärtsstrom an der R_{II}^0 -Grenze des Übergangsbereichs größer als an der R_I^0 -Grenze. Am Schnittpunkt von R_{II}^0 mit der Grenze des Übergangsbereichs tritt ein Strom-Maximum in der Kennlinie (I_{max}^0), an der Grenze von R_I^0 zum Übergangsbereich ein Strom-Minimum (I_{min}^0) auf. (I_{min} und I_{max} beziehen sich jeweils auf den Betrag des Stromes. Die Grenzen des Übergangsbereichs geben gleichzeitig den Spannungswert des Strom-Maximums V_{Imax}^0 bzw. des Strom-Minimums V_{Imin}^0 an). Die Neigung der Verbindungslinie zwischen beiden Extrema der Kurve, R_{Tr}^0 , wird negativ (Abb. 11 und 12).

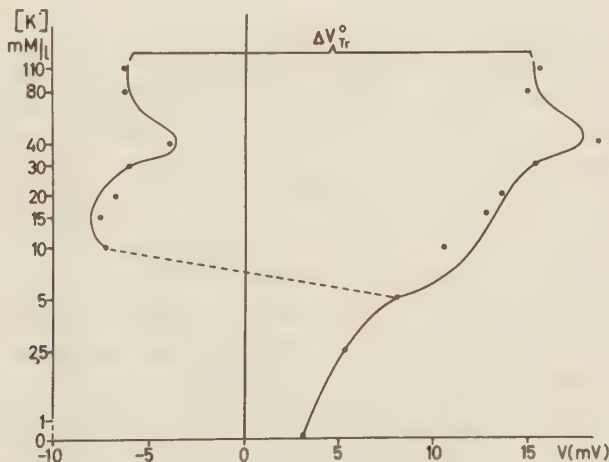


Abb. 13 Der Übergangsbereich ΔV_{Tr}^0 . Abhängigkeit der Breite und Lage von $[K^+]_a$ (15 Versuche, 1965). Zwischen 0 und 10 mM/l $[K^+]_a$: R_I^0/R_{II}^0 - Schnittpunkt. Bei $[K^+]_a > 10$ mM/l ist links V_{Imin}^0 , rechts V_{Imax}^0 aufgetragen.

So besitzt die Kennlinie bei $[K^+]_a > 15 \text{ mM/l}$ außer den Ästen positiven Widerstandes, die die Gleichrichtercharakteristik des "ruhenden" Schnürrings bilden, einen differentiell negativen Widerstand im Übergangsbereich. Als Übergangsbereich ΔV_{Tr}^0 können wir nunmehr das Spannungsgebiet zwischen beiden Extrema der Kurve definieren. Während der Betrag ΔV_{Tr}^0 zwischen 10 und 20 mM/l $[K^+]_a$ zunimmt, bleibt er bei $[K^+]_a > 20 \text{ mM/l}$ mit 22 mV konstant, d.h. von $[K^+]_a$ unabhängig.

Da die Grenzen des Übergangsbereichs mit den Grenzen von R_I^0 und R_{II}^0 bei -6 mV bzw. bei +16 mV zusammenfallen, bleibt auch die Lage von ΔV_{Tr}^0 im Strom-Spannungs-Diagramm bei $[K^+]_a > 20 \text{ mM/l}$ konstant, d.h. unabhängig von $[K^+]_a$. Lediglich bei 40 mM/l $[K^+]_a$ verschiebt sich ΔV_{Tr}^0 um 3-5 mV in Depolarisationsrichtung (Abb. 13).

d) Arbeitsformel für die Berechnung des repräsentativen negativen Widerstandes

Aus der folgenden Zusammenstellung der wichtigsten Ergebnisse läßt sich eine einfache mathematische Beschreibung der Substitutionscharakteristik bei erhöhter $[K^+]_a$ ableiten.

Die Neigung des hochohmigen Astes R_I^0 ist konstant und nahezu unabhängig von $[K^+]_a$. Die systematische Abnahme des Widerstandes von R_{II}^0 mit der Zunahme von $[K^+]_a$ kann durch einen Korrekturfaktor berücksichtigt werden. Bei einer Depolarisation durch $[K^+]_a > 20 \text{ mM/l}$ erscheint das Gleichrichterdigramm des "ruhenden" Schnürrings um die Depolarisationsspannung entlang der Abszisse parallel verschoben. Der hochohmige Ast endet jetzt jedoch bei -6 mV (statt wie vorher bei +5 mV). Der niederohmige Ast erreicht einen festen Spannungswert im Bereich von +16 mV. Hier liegt das Strom-Maximum der Charakteristik, bei -6 mV das Strom-Minimum. Die Verbindungslinie zwischen beiden Extrema der Kurve stellt den repräsentativen negativen Widerstand R_{Tr}^0 dar. Die Spannungsdifferenz zwischen V_{Imin}^0 und V_{Imax}^0 , die wir als Übergangsbereich ΔV_{Tr}^0 bezeichnen, bleibt bei $[K^+]_a$ zwischen 20 und 110 mM/l mit 22 mV konstant.

Aufgrund dieser einfachen geometrischen Zusammenhänge zwischen den gemessenen Größen R_I^0 , R_{II}^0 und R_{Tr}^0 , sowie V_m^0 , kann der stationäre negative Widerstand, sowie I_{min}^0 und I_{max}^0 eines Präparates für alle Depolarisationsspannungen zwischen +20 und +60 mV - wie folgt - leicht berechnet werden,

sofern die Gleichrichtercharakteristik für das Ruhepotential bekannt ist.

Wenn R_I^0 in der Substitutionscharakteristik verlängert wird, bis er R_{II}^0 schneidet, ergeben sich zwei Dreiecke: $0, V_m^0, I_{\min}^0$ und $V_{Imax}^0, V_m^0, I_{\max}^0$ (Abb. 14).

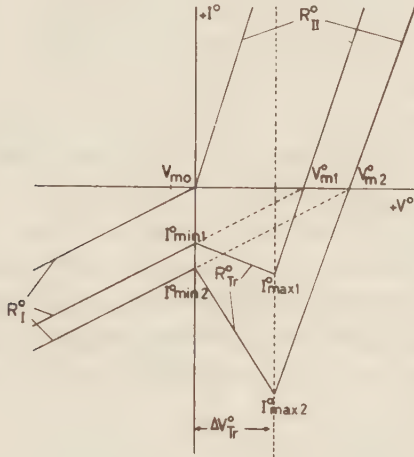


Abb. 14 Lineare Substitutionskennlinien des Schnürrings für verschiedene $[K^+]_a$. 0-Punkt der Schar = Substitutionsdiagramm der Gleichrichtercharakteristik bei 2,5 mM/l $[K^+]_a$. V_{m1}^0, V_{m2}^0 sind 2 verschiedene Depolarisationsspannungen $V_m^0 > V_{Imax}^0$.

Für diese Dreiecke gelten folgende Beziehungen:

$$I_{\min}^0 = -V_m^0 / R_I^0 \quad (13)$$

$$I_{\max}^0 = -\frac{V_m^0 - V_{Imax}^0}{R_{II}^0} \quad (14)$$

$$R_{Tr}^0 = -\frac{R_I^0 \cdot R_{II}^0 \cdot V_{Imax}^0}{R_I^0 (V_m^0 - V_{Imax}^0) - R_{II}^0 V_m^0} \quad (15)$$

wobei $I = 0$ unter Vernachlässigung von V_{mG} in den Schnittpunkt des verlängerten R_I^0 mit R_{II}^0 gelegt wird.

Da V_{Tr}^0 für Depolarisationsspannungen $> +20$ mV konstant ist, ferner die V_m^0 stets auf der Abszisse liegen und sich R_I^0 bei veränderter Depolarisationsspannung parallel und R_{II}^0 annähernd parallel verschieben, gilt 1), 2) und 3) näherungsweise für alle Kennlinien eines Präparates bei $[K^+]_a$ zwischen 20 und 110 mM/l. Vergleiche zwischen errechneten und gemessenen Werten zeigen, daß die Berechnung Näherungswerte des negativen Widerstandes liefert und die Abhängigkeit des negativen Widerstandes von der Depolarisationsspannung richtig wiedergibt.

Die trotz der vielen Vereinfachungen gute Übereinstimmung der berechneten Werte mit den Meßergebnissen (BALK und MÜLLER-MOHNSEN 1966) bestätigt die aus den Experimenten gezogenen Schlüsse, nämlich, daß die Membran, in den scharf begrenzten Spannungsintervallen I und II unabhängig von $[K^+]_a$ zwei Zustände mit verschieden großer positiver Leitfähigkeit besitzt. In dem zwischen I und II gelegenen konstanten Übergangsbereich ΔV_{Tr}^0 können die Äste positiven Widerstandes nicht existieren. Sie gehen hier ineinander über und bilden, wenn $V_m > +22$ mV, einen stationären negativen Widerstand.

2. Die gemessene Kennlinie

a) Unterschiede gegenüber der Substitutionscharakteristik

Der Hauptunterschied gegenüber der Substitutionscharakteristik beruht darauf, daß der Übergang zwischen R_I und R_{II} in den gemessenen Kennlinien stetig differenzierbar erfolgt. Daraus resultiert, daß die Extrema der gemessenen Kurven I_{min} und I_{max} in ihrem Betrag von I_{min}^0 und I_{max}^0 abweichen. Außerdem weichen V_{Imin} bzw. V_{Imax} und V_{Imax}^0 in all den Fällen voneinander ab, in denen $|R_{Tr}| \neq |R_I|$ bzw. $|R_{Tr}| \neq |R_{II}|$, da dann die Winkelhalbierenden zwischen R_{Tr} R_I bzw. R_{Tr} R_{II} nicht parallel zur Abszisse verlaufen.

Daraus ergeben sich im einzelnen folgende Unterschiede:

1. Bereits bei einem Wert der Meßspannung $V < -10$ mV, der von $[K^+]_a$ abhängt, weicht R_I von R_I^0 ab, um stetig den Wert unendlich zu erreichen und danach in R_{Tr} - bzw. bei $[K^+]_a < 10$ mM/l in R_{II} - überzugehen. Dieser Wert liegt bei -10 mV, wenn $[K^+]_a = 2,5$ mM/l und bei -20 mV, wenn $[K^+]_a = 110$ mM/l, verschiebt sich also mit zunehmender $[K^+]_a$ in Richtung negativer Spannungen.

2. Desgleichen weicht R_{II} von R_{II}^0 bereits vor Erreichen von V_{Imax}^0 , der Grenze des Übergangsbereichs, ab, um stetig in R_I bzw. R_{Tr} einzulaufen. Daraus ergibt sich, daß I_{min} stets bei größeren Einwärtsstrom-Werten liegt als V_{Imin}^0 , I_{max} dagegen bei kleineren als I_{max}^0 .

3. V_{Imin} bzw. V_{Imax} fällt in den gemessenen Kurven nicht mehr mit $V = -6$ mV, bzw. $V = +16$ mV zusammen, wie V_{Imin}^0 bzw. V_{Imax}^0 , sondern hängt vom Verhältnis R_I^0/R_{Tr}^0 bzw. R_{II}^0/R_{Tr}^0 ab. $V_{Imin} = V_{Imin}^0$, wenn $|R_{Tr}^0| = |R_I^0|$. Bei 15 mM/l $[K^+]_a$ ist V_{Imin} um +2 bis 5 mV gegenüber V_{Imin}^0 verschoben. Bei einem Anstieg der $[K^+]_a$ bleibt die Abweichung in Depolarisationsrichtung zwar bestehen, solange $R_I^0 < R_{Tr}^0$, also bis zu einer $[K^+]_a$ von höchstens 30 mM/l. Hier wird $V_{Imin} = V_{Imin}^0$, da $|R_I^0| = |R_{Tr}^0|$. Bei einem weiteren Anstieg der $[K^+]_a$ verschiebt sich V_{Imin} gegenüber V_{Imin}^0 in Polarisationsrichtung, da $|R_I^0| > |R_{Tr}^0|$, und erreicht bei 110 mM/l $[K^+]_a$ eine Abweichung von -7 bis -9 mV. V_{Imax} ist bei 15 mM/l $[K^+]_a$ gegenüber V_{Imax}^0 um -7 bis -9 mV verschoben, da $R_{II}^0 < R_{Tr}^0$. Diese Abweichung nimmt mit zunehmender $[K^+]_a$ ab, bis oberhalb 40 mM/l $[K^+]_a$ nur noch geringe Abweichungen nachweisbar sind, da $R_{Tr}^0 \simeq R_{II}^0$ wird.

4. Diese Unterschiede zwischen den Potential-Werten der Extrema der gemessenen und der Substitutionscharakteristik entstehen dadurch, daß ΔV_{Tr} nicht konstant ist, wie ΔV_{Tr}^0 , sondern auch bei $[K^+]_a > 30$ mM/l von $[K^+]_a$ abhängen (bei 15 mM/l $[K^+]_a$ beträgt $\Delta V_{Tr} = 9$ mV, bei 110 mM/l beträgt $\Delta V_{Tr} = 29$ mV). Da sich V_{Imax} bei höheren $[K^+]_a$ nur wenig mit $[K^+]_a$ ändert, ist die Verbreitung des Übergangsbereichs ΔV_{Tr} gegenüber ΔV_{Tr}^0 auf die systematische Verschiebung von V_{Imin} mit $[K^+]_a$ zurückzuführen.

b) Arbeitsformel zur Beschreibung der gemessenen Kennlinie

Eine empirische Beschreibung der Kennlinienschar geht von der Beschreibung einer typischen Einzelkennlinie aus. Diese besitzt zusammengefaßt folgende Merkmale (Abb. 15b):

- A - B einen hohen ohm'schen Widerstand (R_I), dessen Verlängerung die Abszisse in V_{mG} schneidet.
- B - C eine stetige Abnahme des Widerstandes ("Sehnenwiderstand", siehe Abb. 15a, Kurve R), der sich nach Durchlaufen eines Wendepunktes stetig auf einen konstanten Endwert R_{II} einstellt, den er in C erreicht. In diesem Spannungsabschnitt, der eine von

$[K]_a$ unabhängige konstante Breite hat, durchläuft die Kennlinie zwei Extremwerte des Stromes. Der Betrag des zwischen beiden Extrema gelegenen Übergangswiderstandes R_{Tr} ist von V_m abhängig.

C - D einen niedrigen ohm'schen Widerstand, R_{II} , der auf den Punkt D zielt und die Abszisse bei V_m schneidet.

Die gemessene Kennlinienschar läßt sich nach G. ALBRECHT-BÜHLER (1967) darstellen durch die Gleichung

$$I(V) = [V - (V_m - V_{mG})] G(V) \quad (16)$$

Die Sehnenleitfähigkeit $g(V)$ wird beschrieben durch

$$G(V) = \left[R_{II} + \left(\frac{R_I - R_{II}}{1 + e^{\alpha(V - V_{Tr})}} \right) \right]^{-1} \quad (17)$$

α , die "Abfallkonstante" mit der Dimension mV^{-1} ist ein Maß für die Steilheit des Überganges zwischen den Grenzwiderständen R_I und R_{II} und ihr Kehrwert für die Größe des Spannungsintervalls, in dem Leitfähigkeit und Gegenspannung ihren Wert ändern (Abb. 15a). Als Anhaltswert gilt für die gemessenen Kurven $0,2 mV^{-1}$. V_{Tr} gibt die Mitte des Spannungsintervalls an, ist somit ein Maß für dessen Lage. Die V - und $[K]_a$ -abhängige Gegenspannung ist beschrieben durch

$$V_{mG} = \frac{\overline{V_{mG}} \ln \frac{[K]_a}{a}}{1 + e^{\alpha(V - V_{Tr})}} \quad (18)$$

$\overline{V_{mG}}$ ist eine empirisch bestimmte Konstante, ebenso a . Letztere hat die Dimension mM/l . Als Anhaltswert sei genannt $V_{mG} = 11 \ln [K]_a / 5$.

Für R lauten die Formeln 16 und 17

$$I(V) = \frac{V - (V_m - V_{mG})}{R} \quad \text{und} \quad (16a)$$

$$R(V) = R_{II} + \frac{R_I - R_{II}}{1 + e^{\alpha(V - V_{Tr})}} \quad (17a)$$

Die aus diesen Gleichungen mit dem Analogrechner errechnete Kennlinienschar zeigt in den Einzelkurven nur geringe Abweichungen (1-5 %) von den gemessenen Kurven.

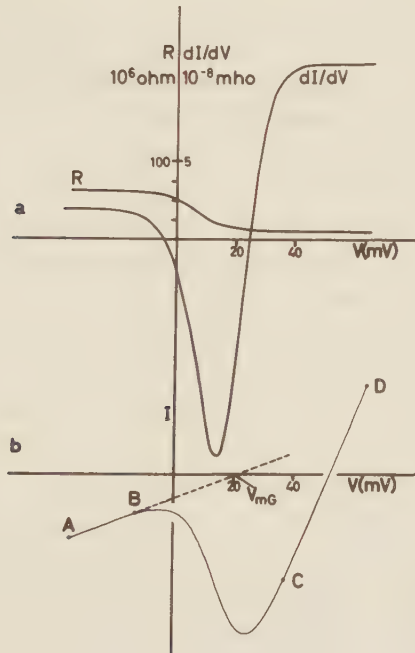


Abb. 15 Nachberechnung der gemessenen Kennlinie am Beispiel der gemessenen stationären Kennlinie für 110 mM/l $[K^+]_a$ des Schnürrings 289/65 (siehe auch Abb. 16).

a) Darstellung der Gleichung 17 für den Betrag des Widerstandes R ("Sehnenwiderstand"). Die in den Abschnitten I und II verschieden großen Konstanten R, werden im Abschnitt Tr ineinander überführt. Außerdem Darstellung der differentiellen Leitfähigkeit $1/r = dI/dV$.
b) Graphische Darstellung der Gleichung 17a ergibt die errechnete Kennlinie.

Bei der Nachrechnung der Kurven mit dieser Arbeitsformel zeigte sich, daß sich die Parameter bei einer Zunahme der $[K^+]_a$ von 0 ÷ 80 mM/l systematisch verändern. (Folgende Zahlen sind 4 Experimenten von ALBRECHT-BÜHLER entnommen.)

R_I nimmt ab von $58 \div 52 \text{ M}\Omega$, R_{II} von $11 \div 8,5 \text{ M}\Omega$. V_{mG} verändert sich von -5 mV bis $+21 \text{ mV}$. V_{Tr} verschiebt sich um $\approx 10 \text{ mV}$ in Polarisationsrichtung. Die Breite der Übergangsintervalle dagegen bleibt unabhängig von $[K]_a$ konstant.

Die gemessenen Kennlinien sind mit einem systematischen Meßfehler behaftet, der durch den Nebenschlußwiderstand im Luftspalt bedingt ist. Aus den gemessenen lassen sich die "wahren" Kennlinien ermitteln, wenn die im Abschnitt Meßtechnik angegebene Korrektur durchgeführt wird. Da sich die Größe des Nebenschlußwiderstandes höchstens abschätzen läßt, bleibt die Korrektur vorerst noch ungenau. Die korrigierten Kennlinien lassen sich mithilfe der Gleichung 17 und der Gleichungen für die Korrektur, 11 und 12, in einfacher Weise aus den gemessenen herleiten. Aus den korrigierten Kennlinien ergeben sich folgende Beträge für die in den Gleichungen enthaltenen Parameter:

$$R_I = 120 \text{ M}\Omega, R_{II} = 20 \text{ M}\Omega, \alpha = 0,15 \text{ mV}^{-1}, \overline{V_{mG}} = 16 \text{ mV}, a = 5 \text{ mM/l.}$$

3. Die Hysterese

Als Hysterese bezeichnen wir die von den Kennlinien unterschiedlicher Abtastrichtung eingeschlossene Fläche. Auf die in Abb. 10 dargestellten Hysterese-Verläufe, die bei Abtastgeschwindigkeiten $dV/dt > 2 \text{ mV/sec}$, also unter instationären Meßbedingungen, entstehen, gehen wir im Zusammenhang dieser Beschreibung quasi-stationärer Kennlinien nicht näher ein. Wie Abb. 10 und Abb. 16 zeigen, ändert sich der Kurvenverlauf, wenn die Abtastrichtung geändert wird, auch bei Abtastgeschwindigkeiten $dV/dt < 2 \text{ mV/sec}$, die wir zu den stationären Meßbedingungen zählen. Die Hysterese, i.e. der Unterschied zwischen den mit verschiedenen Vorzeichen des Zeitgradienten dV/dt aufgenommenen Kennlinien, beruht darauf, daß bei den von uns verwendeten Abtastgeschwindigkeiten $dV/dt = 1-2 \text{ mV/sec}$ ausschließlich die in Polarisationsrichtung (dV/dt negativ) aufgenommenen Kennlinien das stationäre Strom-Spannungsverhalten der Membran wiedergeben, während die dV/dt -Abhängigkeit der in Depolarisationsrichtung (dV/dt positiv) abgetasteten Kennlinien bestehen bleibt.

Um einen von der dV/dt unabhängigen Verlauf der in Depolarisationsrichtung abgetasteten Kennlinien zu erreichen, wären Abtastzeiten $t > 10 \text{ min}$ für die Messung einer einzelnen Kennlinie erforderlich. Eine derartig lange Meß-

dauer führt aber zu irreversiblen Schäden des Präparates durch Strombelastung. Bei einer 10-fachen Dauer der Einzelmessung käme die Gesamtdauer des Versuches zudem in die Nähe der - statistischen Schwankungen stark unterworfenen - Überlebenszeit des Präparates. Schädigung und Alterung zusammen würden bewirken, daß ein "Gang" der Präparateigenschaften in die Meßergebnisse eingeht. Dadurch würde die quantitative Analyse der einzelnen Kurvenschar erschwert und - wegen der statistischen Schwankungen des "Ganges" - die Möglichkeit, Meßergebnisse verschiedener Präparate quantitativ miteinander zu vergleichen, stark eingeschränkt. Da die Abtastung der Kennlinien in Polarisationsrichtung keine derartigen Schwierigkeiten aufwirft, erscheint uns die Registrierung mit positiver dV/dt der Meßspannung für die Darstellung des stationären Membranverhaltens experimentell sinnlos.

Der Grund für das Auftreten der Hysteres besteht offenbar darin, daß die kleinsten Abtastgeschwindigkeiten, die gerade noch eine Kennlinienmessung ohne irreversible Schädigung des Präparates durch langdauernde Strombelastung erlauben ($dV/dt = 1-2 \text{ mV/sec}$) und daher von uns verwendet wurden, nur für eine Abtastrichtung ($-dV/dt$) als stationäre Meßbedingung anzusehen ist, für die andere ($+dV/dt$) dagegen nicht. Da die Hysterese somit ein unumgänglicher Bestandteil unserer Meßergebnisse ist, soll sie im Folgenden kurz beschrieben werden.

Die Hysterese kommt durch die Abweichung der in positiver Abtastrichtung von der in negativer Richtung aufgenommenen, eingehend beschriebenen stationären Kennlinie zustande. Sie wird deswegen anhand der Unterschiede dargestellt, die der Verlauf der instationären Kennlinie gegenüber dem der stationären aufweist, (Abb. 16). In der vergleichenden Beschreibung wird die Abtastrichtung durch Vorzeichen-Indizes angegeben. So bedeutet z.B. R_{II-} : niederohmiger Ast, dV/dt der Meßspannung negativ.

a) Die Ausdehnung der Hysterese in Spannungsrichtung

Unter den als stationär definierten Meßbedingungen (Abtastgeschwindigkeiten von $1-3 \text{ mV/sec}$) verlaufen R_{I+} und R_{I-} zwischen V_{Imin-} und der Durchschlagsspannung identisch. In der Gleichrichtercharakteristik bei $[K]_a < 10 \text{ mM/l}$ beobachten wir eine Hysterese ausschließlich im Bereich von R_{II} und zwar zwischen $\approx +5$ und $+30 \text{ mV}$. Solange der Übergangsbereich bei einer $[K]_a$ von 10 bis 15 mM/l noch nicht seine vollständige Breite erreicht hat, tritt die Hysterese in einem $\approx 40 \text{ mV}$ umfassenden Bereich auf. Sie erstreckt sich über den gesamten Übergangsbereich und den angrenzenden Abschnitt von R_{II} (Abb. 16).

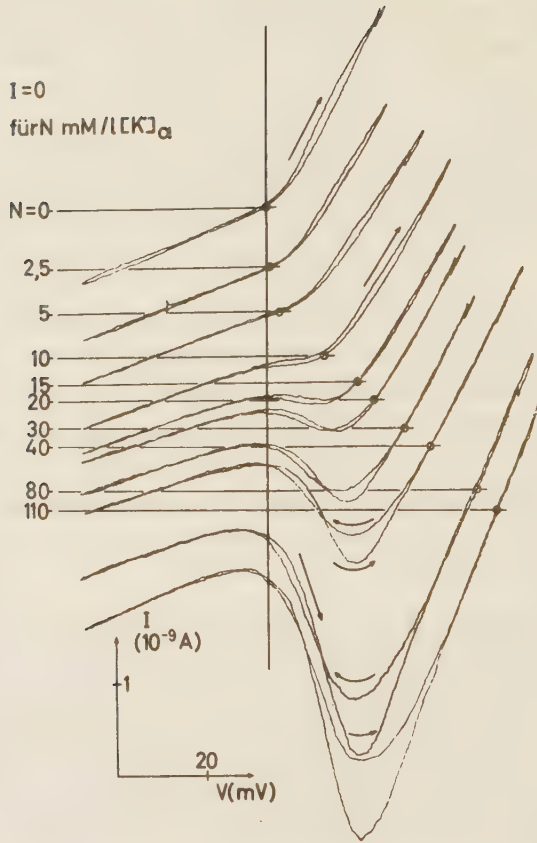


Abb. 16 Die Abhängigkeit des Kennlinienverlaufs von der Abtastrichtung: Hysterese; dargestellt für verschiedene Werte von $[K^+]_a$ (Originalregistrierung, Schnürring 289/65; Darstellungsweise von I , V und $[K^+]_a$ siehe Abb. 11a). Kennlinien bei jedem angegebenen Wert von $[K^+]_a$ in beiden Abtastrichtungen aufgenommen. Abtastrichtung der Einzelkurven durch Pfeile gekennzeichnet. Beschreibung siehe Text.

Wird die $[K^+]_a$ über 10 mM/l erhöht, so bleibt die den Übergangsbereich einschließlich des angrenzenden Abschnittes von R_{II} umfassende Lage der Hysterese annähernd konstant. Die Anfangs- und Endpunkte verschieben sich bei einem Anstieg der $[K^+]_a$ von 2,5 mM/l bis 110 mM/l insgesamt um

-10 mV; die Breite des Hysteresebereichs (≈ 40 mV) bleibt dabei bestehen. Zwischen 30 und 40 mM/l $[K^+]_a$ endet die Hysterese in positiver Richtung nahe der Depolarisationsspannung, zwischen 60 und 110 mM/l $[K^+]_a$ bei einem Spannungswert $V < V_m$. Im Spannungsbereich oberhalb V_m verlaufen R_{II-} und R_{II+} bei 30 bis 110 mM/l $[K^+]_a$ identisch.

b) Die Form der Hysterese, Unterschiede zwischen I_+ und I_-

Während der Spannungsbereich der Hysterese (Depolarisationsbereich zwischen ≈ 0 und $\approx +40$ mV) nur geringfügig von $[K^+]_a$ beeinflusst wird, ändert sich der Strom im gleichen Konzentrationsbereich nicht nur im Betrag sehr stark mit $[K^+]_a$, sondern es tritt auch ein Vorzeichenwechsel ein. In der Gleichrichtercharakteristik ($[K^+]_a < 10$ mM/l) liegt die Hystereseschleife ausschließlich bei Auswärtsströmen (1. Quadrant). R_{II+} ist im gesamten Hysteresebereich niederohmiger als R_{II-} und bildet daher die bei größeren Auswärtsströmen liegende "obere" Begrenzung einer 0-förmigen Hystereseschleife. Am Ende der Krümmung der Gleichrichtercharakteristik, und zwar bei einem Spannungswert, der zwischen +3 und +7 mV liegt, beginnt die in positiver Richtung aufgenommene Kurve nach größeren Auswärtsströmen abzuweichen. Sobald sie einen Abstand von ca. $+3 \cdot 10^{-9}$ A erreicht hat, läuft sie annähernd parallel zu R_{II-} weiter. Bei einem nicht exakt reproduzierbaren Spannungswert, der zwischen +15 und +30 mV liegt, findet oft ein spontaner Übergang des Stromes auf die in negativer Richtung aufgenommene Kurve statt. Steigt die Meßspannung weiter an, so geht der Strom oft in flachem Bogen wieder zurück, so daß R_{II+} noch um einen kurzen Abschnitt weiter fortgesetzt wird. Der spontane Übergang kann sich noch ein oder mehrere Male wiederholen, bis sich schließlich beide Kurven decken. Oft sind diese spontanen Übergänge nicht zu beobachten (Abb. 16). In diesen Fällen biegt R_{II+} in Form einer monotonen Krümmung in R_{I-} ein.

Tritt bei niedriger $[K^+]_a$ zwischen 10 und 15 mM/l eine geringe Depolarisation auf und damit ein Übergangsstast, d.h. eine Tendenz zur Stromumkehr im Übergangsbereich, so nähert sich der Verlauf von R_{II+} dem von R_{II-} . Die Hystereseschleife liegt nun zu einem Teil im Einwärtsstrombereich (4. Quadrant) und wird dabei entweder sehr schmal oder verschwindet, d.h. beide Kennlinien verlaufen identisch. Bei $[K^+]_a > 20$ mM/l und negativem R_{Tr} wird die Tatsache wieder deutlich erkennbar, daß die in Depolarisationsrichtung

abgetastete Kennlinie im Hysteresebereich niederohmiger ist. Im Bereich ΔV_{Tr}^0 überschneiden sich beide Kurven derart, daß I_{max+} größere Werte erreicht als I_{max-} . Dadurch wird aus der 0-förmigen eine 8-förmige Hystereseschleife, die, wie auch bei höherem $[K]_a$, nun fast vollständig im 4. Quadranten des auf Ruhepotential normierten Diagramms liegt. Erst bei einer $[K]_a > 30$ mM/l und voll ausgebildetem Übergangsbereich nimmt die Hystereseschleife ihre auch für höhere $[K]_a$ gültige Form an. Da die Hystereseschleife bei $[K]_a > 30$ mM/l zwischen V_{Imax} und V_{mo} liegt, können wir deren Beschreibung auf die Darstellung der unterschiedlichen Kennlinienverläufe in diesem Spannungsbereich beschränken.

Verfolgen wir den Kurvenverlauf in Abb. 16 von links nach rechts, so weicht R_{I+} in den Kennlinien mit negativem R_{Tr} von R_{I-} im Bereich der Krümmung nahe V_{Imin-} ab, indem er seinen Verlauf um wenige mV in Depolarisationsrichtung fortsetzt. Dadurch verschiebt sich V_{Imin+} gegenüber V_{Imin-} um ca. 5 mV. V_{Imin+} liegt daher bei kleineren Strömen als V_{Imin-} . Die stationäre Kennlinie bildet in diesen Kurven im linken Teil der Hystereseschleife die untere Begrenzung. Für den gesamten übrigen Hysteresebereich bis zu seiner Grenze bei positiven Spannungen ist die Hysterese dadurch bestimmt, daß die in Depolarisationsrichtung abgetastete Kennlinie niederohmiger verläuft als die stationäre Kennlinie. Da R_{Tr+} bei gleichbleibendem V_{Imax} niederohmiger ist als R_{Tr-} , überschneiden sich beide, so daß I_{max+} bei größeren Werten liegt, als I_{max-} . Somit bildet die stationäre Kurve im rechten Teil der Hystereseschleife deren obere Begrenzung. Die Differenz zwischen I_{max+} und I_{max-} nimmt mit steigender $[K]_a$ zu und erreicht bei 110 mM/l $[K]_a$ Werte zwischen $0,6$ und $1 \cdot 10^{-9}$ A. R_{II+} verläuft von V_{Imax} ab bis zu seiner Berührung mit R_{II-} steiler als dieser. Da R_{II+} und R_{II-} von diesem Berührungspunkt zu größeren Spannungswerten identisch verlaufen, entsteht ein leicht gekrümmter Verlauf von R_{II+} in diesem Hystereseseabschnitt.

Die zur Erscheinung der Hysterese führenden Unterschiede zwischen der in positiver Richtung abgetasteten Kennlinie und der stationären bestehen 1. in dem niederohmigeren Verlauf der ersteren innerhalb des Hysteresebereichs und 2. in dem um 5 mV kleineren ΔV_{Tr}^0 . Dies ist die Spannung, um die sich V_{Imin+} gegenüber V_{Imin-} bei gleichbleibendem V_{Imax} verschiebt. Die Berechnung der mit positiver dV/dt der Meßspannung erhaltenen Schar von in-stationären Kennlinien bzw. deren Substitutionskennlinien ist mit den gleichen Formeln durchführbar, wie die der stationären Kennlinie, wenn die Abnahme

des Übergangsbereichs ΔV_{Tr} durch den entsprechend größeren Wert der Abfallkonstante α bzw. durch den kleineren Wert $\Delta V_{Tr}^0 = 17 \text{ mV}$ (statt 22 mV) berücksichtigt wird. (Siehe auch Gleichung 13-15 bzw. 16 und 17.)

F. Die Depolarisation als Bedingung für den Nachweis des stationären negativen Widerstandes

Die vorliegende Darstellung der Meßergebnisse erleichtert die Formulierung der Gründe dafür, daß die Membran depolarisiert werden muß, wenn der stationäre negative Widerstand nachgewiesen werden soll (zur Orientierung siehe Abb. 14).

Der stationäre negative Widerstand liegt im Spannungsbereich zwischen Ruhepotential V_{mo} und dem Spannungswert des Strom-Maximums V_{Imax} . Zur Messung des negativen Widerstandes muß dieser Bereich daher durch die Meßspannung abgetastet werden. Da der negative Widerstand bei negativen Strömen ($-I$) liegt und $I = g(V - V_m)$ gilt, ist er stationär nur dann meßbar, wenn die den Übergangsbereich abtastende Meßspannung als treibende Kraft ($V - V_m$) für den stationären Einwärtsstrom von Kationen wirkt, also wenn im Übergangsbereich $V - V_m < 0$.

Eine Messung des stationären negativen Widerstandes ist demnach - wie jede stationäre Messung von Strom und Spannung im 4. Quadranten des Diagramms überhaupt - nur dann möglich, wenn folgende Bedingungen erfüllt sind:

Bedingung 1) $V_{mo} < V < V_{Imax}$

Bedingung 2) Wenn im Außenmedium genügend Ladungsträger vorhanden sind und die stationäre Leitfähigkeit der Membran für diese Ladungsträger ausreichend hoch ist.

Bedingung 3) $|V_{mo} - V_m| > -\Delta V_{Tr}$

Bedingung 3, nämlich eine ausreichend große Depolarisation der Membran folgt - unveränderte Konzentration im Faserinneren vorausgesetzt - zwangsläufig aus Bedingung 2. Diese Bedingungen sind z.B. erfüllt, wenn die Gleichgewichtsspannung der normalerweise für den stationären Ladungstransport maßgebenden K^+ -Batterie durch eine Erhöhung der $[K^+]_a$ in Depolarisations-

richtung verschoben wird und zwar wenn

$$2a) \quad |V_{mo} - V_K| > |-22 \text{ mV}|.$$

K⁺ kann in seiner Eigenschaft als stationär beweglicher Ladungsträger an der Membran und damit in dem Einfluß seines Konzentrationsgradienten auf das Membranpotential durch Rb⁺ ersetzt werden. Um die Gültigkeit der Bedingungen 1-3 zu prüfen, haben wir die stationäre Kennlinie auch während der Rb⁺-Depolarisation gemessen und auch hierbei eine stationäre fallende Charakteristik nachweisen können (MÜLLER-MOHNSEN u. BALK 1966). Da im Zusammenhang dieser Arbeit vor allem die Beschaffenheit und Nachweisbarkeit der fallenden Charakteristik für die normalerweise als Ladungsträger in Betracht kommenden Ionen von Bedeutung ist, nicht aber einige spezielle Unterschiede der Rb⁺- gegenüber der K⁺-Kennlinie, werden diese nur cursorisch besprochen.

Die Ähnlichkeit der Rb⁺- mit der K⁺-Kennlinie ist, da Rb⁺ in verschiedener Hinsicht als K⁺-Substituent wirkt, keineswegs überraschend. Um feststellen zu können, ob der stationäre negative Widerstand als eine vom speziellen Ladungsträger unabhängige, allgemeine Membraneigenschaft bezeichnet werden kann, war es daher erforderlich, die Gültigkeit der Bedingungen 1-3 für den Nachweis der stationären fallenden Charakteristik auch beim Vorhandensein von Ladungsträgern zu prüfen, für die die Membran ganz andere Leitfähigkeitseigenschaften besitzt als für K⁺ bzw. Rb⁺. Ein solcher Ladungsträger ist Na⁺.

Durch eine Veratridin-Vergiftung wird die stationäre Na⁺-Leitfähigkeit der Membran erhöht (STRAUB 1956). Die stationäre Na⁺-Leitfähigkeit kann je nach der in der Außenlösung herrschenden Veratridin-Konzentration gleich groß, oder sogar größer werden, als die der übrigen potentialbestimmenden Ionen, insbesondere K⁺. Es tritt eine Veratridindepolarisation ein, weil die Na⁺-Batterie wegen Abnahme ihres Innenwiderstandes Einfluß auf das Membranpotential bekommt und dieses in Richtung ihres Diffusions-Potentials E_{Na} verschiebt. Die Bedingungen 1-3 für den Nachweis des stationären negativen Widerstandes werden daher durch eine Veratridindepolarisation erfüllt. Die während der Veratridin-Depolarisation auch tatsächlich meßbare stationäre fallende Charakteristik (MÜLLER-MOHNSEN u. BALK 1964) wird im einzelnen beschrieben, da sie als "Na⁺-Kennlinie" für die

vergleichenden Betrachtungen der stationären und dynamischen Membraneigenschaften (2. Teil der Ergebnisse) von Bedeutung ist.

G. Die stationäre Kennlinie während der Rb'-Depolarisation

Enthält die Lösung, mit der der Schnürring gespült wird, Rb' im Austausch gegen äquimolare Mengen Na' bzw. K', so ist eine fallende Charakteristik meßbar, wenn $[\text{Rb}]_a > 20 \text{ mM/l}$. Der Übergangsbereich hat etwa die gleiche Breite und liegt bei gleichen Spannungen wie während der K'-Depolarisation. Im einzelnen zeigt die Rb'- gegenüber der K'-Kennlinie folgende Unterschiede (10 Versuche):

1) Nur in einzelnen Experimenten verläuft der hochohmige Ast linear ($R_I = \text{konst.}$) und ist dann im Betrag entweder ∞ , oder nur wenig von ∞ verschieden. In anderen Experimenten zeigt sich im mittleren Spannungsbereich von R_I ein zweites Strom-Minimum. In diesen Fällen ist der differentielle Widerstand zwischen dem Spannungswert dieses 2. Strom-Minimums und der Durchschlagsspannung negativ.

2) $I_{\min}$ und $I_{\max}$ liegen bei größeren Strömen als in der K'-Kennlinie.

3) R_{II} ist in der Rb'-Kennlinie niederohmiger.

4) Die Hysteresefläche ist wesentlich größer. Dabei zeigen die Beträge $V_{I_{\min+}}$ und $V_{I_{\min-}}$ eine entsprechend größere Differenz.

5) R_{Tr-} ist daher kleiner, R_{Tr+} größer als in der K'-Kennlinie. Eine Überschneidung von R_{Tr-} und R_{Tr+} tritt nicht ein.

H. Die stationäre Kennlinie während der Veratridin-Depolarisation

1. Die Na'-Kennlinie

In diesen Experimenten wurde die Veratridin-Depolarisation zunächst durch Bspülung mit Normalringerlösung hervorgerufen, die Veratridin in verschiedener Konzentration enthielt. Die Konzentration der Ionen, insbesondere des für den Mechanismus der Veratridin-Depolarisation verantwortlichen Na', sowie der pH-Wert dieser Lösung blieben unverändert.

Die Veratridin-Depolarisation verläuft wie die K^+ -Depolarisation in 3 Phasen. Auf eine langsam verlaufende Phase, die unmittelbar nach Beginn der Bespülung des Schnürrings mit veratridinhaltiger Normal-Ringerlösung einsetzt, folgt eine schnell ablaufende regenerative Depolarisationsphase, bis sich in einer 2. langsamen Phase der stationäre Wert der Depolarisationsspannung asymptotisch einstellt. Während sich die K^+ -Depolarisation in der Größenordnung Sekunden einstellt, erreicht die Veratridin-Depolarisation ihren Endwert in der Größenordnung Minuten (bis 15 min). Ferner ist die Einstellgeschwindigkeit des stationären Arbeitspunktes während der Veratridin-Depolarisation stark herabgesetzt, verglichen mit den Werten bei der K^+ -Depolarisation, mindestens auf $1/10$. Da das Erreichen des stationären Strom-Wertes bei einer rechteckförmigen Verschiebung der Spannung zudem nicht an einem scharfen Knick in der Ableitung dI/dt zu erkennen ist wie während der K^+ -Depolarisation, ist es oft schwer zu beurteilen, ob die Meßwerte im einzelnen Fall wirklich stationär sind.

Die stark verringerte Einstellgeschwindigkeit von I und V am veratridin-depolarisierten Präparat bringt es mit sich, daß die Messung der stationären Veratridinkennlinie mit sehr kleinen Abtastgeschwindigkeiten durchgeführt werden muß. Die mindestens auf das 10-fache, also auf 5-10 min, verlängerte Meßdauer einer einzelnen Kennlinie stellt eine starke Strombelastung des Präparates dar. Bei mehrfacher Wiederholung der Messung treten daher - besonders im Übergangsbereich - systematische Kennlinienveränderungen auf, die die Vergleichbarkeit der Kennlinien einer Schar untereinander beeinträchtigen. In unmittelbar nacheinander aufgenommenen Kennlinien eines veratridindepolarisierten Schnürrings nahm $I_{\max}$ mit jeder Messung ab, während der negative Widerstand entsprechend anstieg. Von der ersten zur zweiten Messung betrug die Abnahme von $I_{\max}$ bis 40 %. Wenn die Messungen schnell aufeinander folgten, ging oft auch die Depolarisationsamplitude zurück. Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse konnte jedoch durch Einschalten von Erholungspausen (5 min) verbessert werden.

Depolarisationsamplitude und Kennlinienverlauf waren von der Veratridin-Konzentration abhängig (Abb. 17b). Bei $5 \cdot 10^{-6}$ g/ml betrugen die Depolarisationsamplitude 55-59 mV, $I_{\max}$ ca. $0,6 \cdot 10^{-9}$ A und R_{Tr} ca. 20 $M\Omega$. Bei $1 \cdot 10^{-5}$ g/ml erreichte die Depolarisationsamplitude 66 mV, $I_{\max}$ $2,0 \cdot 10^{-9}$ A und R_{Tr} 12 $M\Omega$.

Die wichtigsten Kenngrößen des Strom-Spannungsverhaltens, also die Beträge der positiven Widerstände und insbesondere die Lage und Breite des Übergangsbereiches sind gegenüber denselben bei der K^+ -Depolarisation kaum verändert. So gleicht die während der Veratridin-Depolarisation gemessene Kennlinie im grundsätzlichen Verlauf der des K^+ -depolarisierten Schnürrings.

Im Detail bestehen jedoch einige wesentliche Unterschiede. Für den folgenden Vergleich mit den K^+ -Kennlinien (Anstiegsteilheit der Meßspannung $dV/dt = 1 \text{ mV/sec}$) wurden mit $dV/dt = 0,1 \text{ mV/sec}$ abgetastete Veratridin-Kennlinien herangezogen (siehe Abb. 17).

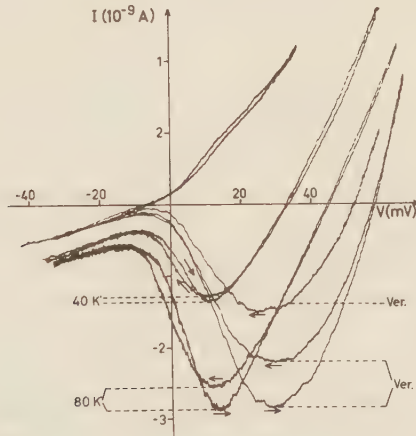


Abb. 17a 2 Scharen stationärer Strom-Spannungskennlinien des Schnürrings, aufgenommen bei K^+ - und Veratridin-Depolarisation. Gleichrichtercharakteristik bei Normal-Ringerlösung; K^+ -Kennlinienpaare (40 und 80 mM/l $[K^+]_a$), Abtastung in beiden Richtungen, $dV/dt = 1 \text{ mV/sec}$. Veratridinkennlinien ($1 \cdot 10^{-5} \text{ g/ml}$), Abtastung $dV/dt = 0,1 \text{ mV/sec}$; unmittelbar nach Einsetzen der Bespülung mit Veratridin-Ringerlösung (einzelne Kennlinie $V_m = 53 \text{ mV}$) Beginn der Registrierung in negativer Abtastrichtung. Von 1000-3000 sec nach Beginn der Bespülung Registrierung des Kennlinienpaares bei gleichbleibendem $V_m = 58 \text{ mV}$ (Originalregistrierung Schnürring 408/67. Abtastrichtung durch Pfeile gekennzeichnet). Trotz Veränderung von V_m unveränderte Lage von Übergangsbereich, sowie von R_I ($V_{mG} \approx 0$) in den Veratridin-Kennlinien.

1) R_I

Die Lage von R_I^0 im Strom-Spannungsdiagramm wird während der Veratridin-Depolarisation nicht durch die Depolarisationsspannung beeinflusst, d.h. der Abszissenschnittpunkt von R_I^0 ändert sich nicht mit V_m , wie während der K^+ -Depolarisation, sondern bleibt unverändert bei dem gleichen Wert wie in der Gleichrichtercharakteristik des mit Normal-Ringerlösung gespülten Schnürrings. Während der Veratridin-Depolarisation ist daher $V_{mG} = V_m$.

2) $I_{\min}$

Die Tatsache 1) bewirkt, daß auch $I_{\min}$ während der Veratridin-Depolarisation - im Gegensatz zur K' -Kennlinie - unabhängig von der Depolarisationsamplitude Null oder sehr klein bleibt. Da das Strom-Minimum zudem im Bereich des Ruhepotentials liegt, wird verständlich, daß die Veratridin-Depolarisation oft nicht spontan eintritt (MÜLLER-MOHNSEN u. BALK 1964).

3) V_{Tr}

Bei stationären Meßbedingungen, d.h. Anstiegsteilheiten der Meßspannung von $dV/dt = 0,1$ mV/sec, ist die Breite des Übergangsbereichs die gleiche wie in der K' -Kennlinie und ebenso wie dort unabhängig von der Depolarisationsspannung. Abb. 17c stellt im linken Diagramm eine K' -Kennlinie und zum Vergleich eine Na' - bzw. Veratridinkennlinie dar, sowie die für die Nachberechnung dieser Kurven (Gleichung 17) erforderliche Stufenfunktion $f(V) = (1 + e^{\alpha(V - V_{Tr})})^{-1}$, die den Übergang zwischen den Grenzwerten R_I und R_{II} beschreibt. Der Darstellung ist sofort zu entnehmen, daß für alle Kurven die gleiche Breite des Übergangsbereiches gilt. Ein geringfügiger Unterschied der Funktionen $f(V)$ besteht darin, daß für die Beschreibung der K' -Kennlinie eine um V_{Tr} inversionssymmetrische Funktion genügt, für die Veratridinkurve dagegen nicht.

Mit zunehmender dV/dt der Meßspannung wird - da sich $V_{I\min}$ dann in Polarisationsrichtung verschiebt - ΔV_{Tr} größer. Bei $dV/dt = -3$ mV/sec hat ΔV_{Tr} etwa den 3-fachen Wert von ΔV_{Tr} bei 1 mV/sec. Diese Veratridinkennlinien sind jedoch nicht als stationär zu bezeichnen.

4) V_{Tr}

Ferner ist der Abb. 17c zu entnehmen, daß der Übergangsbereich ΔV_{Tr} der K' -Kennlinien gegenüber ΔV_{Tr} in den Veratridinkennlinien in Polarisationsrichtung verschoben ist. Maßgebend für die Lage von ΔV_{Tr} ist der Spannungswert V_{Tr} , der die Mitte des Übergangsbereichs angibt. Aus der Differenz der V_{Tr} -Werte ermitteln wir eine Verschiebung des Übergangsbereichs der K' -Kennlinie bei 80 mM/l $[K']_a$ gegenüber den Veratridinkennlinien (2,5 mM/l $[K']_a$) von ≈ -10 mV. Dies ist der gleiche Betrag, um den sich V_{Tr} in Abhängigkeit von $[K']_a$ bei 80 mM/l gegenüber 2,5 mM/l $[K']_a$ verschiebt. Die Ursache für die unterschiedliche Lage des Übergangsbereichs in den K' - und Veratridinkennlinien ist demnach ausschließlich eine geringe Verschiebung von V_{Tr} mit $[K']_a$.

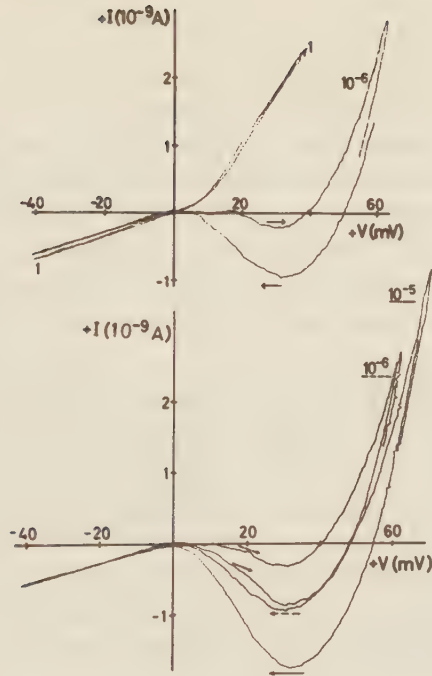


Abb. 17b Instationäre Kennlinien während der Veratridin-Depolarisation (Originalregistrierung, Schnürring 289/65, gleiches Präparat wie Abb. 16), Abtastgeschwindigkeit $dV/dt = 3$ mV/sec, Abtastrichtung durch Pfeile angegeben.
Oberes Diagramm: Gleichrichterkennlinie bei Normal-Ringer (1-1) überlagert durch fallende Charakteristik bei Normal-Ringerlösung, die 10^{-6} g% Veratridin enthält. R_I steigt während der Veratridin-Depolarisation an. Man vergleiche die veränderte Hysterese.
Unteres Diagramm: Verschiedene Depolarisationsamplituden bei verschiedener Veratridin-Konzentration. (10^{-6} g%: gestrichelte Pfeile, 10^{-5} g%: Pfeile mit durchgezogenen Linien.) R_I , $I_{\min}$ und $V_{I\min}$ unabhängig von der Depolarisationsamplitude.

5) R_{Tr}

Wegen der Verschiebung von V_{Tr} ist der während einer Veratridin-Depolarisation am gleichen Präparat gemessene stationäre negative Widerstand bei gleicher Depolarisationsamplitude um 15-18 $M\Omega$ größer als während der

K'-Depolarisation (Vergleich der in negativer Richtung aufgenommenen K'- und Veratridin-Kennlinien).

6) Hysterese

Das während einer Veratridin-Depolarisation in beiden Richtungen aufgenommene Strom-Spannungsdiagramm zeigt die gleiche Form der Hysterese wie die stationäre K'-Kennlinie, wenn stationäre Meßbedingungen bestehen, d.h. die Abtastgeschwindigkeiten für die Veratridin-Kennlinie nicht größer sind als $dV/dt = 0,1 \text{ mV/sec}$. Mit zunehmenden Abtastgeschwindigkeiten ändern sich die Kennlinien und damit auch die Form der Hysterese in ähnlicher Weise mit der dV/dt der Meßspannung wie in den K'-Kennlinien (Abb. 17b).

Die mit negativer dV/dt aufgenommene stationäre Kennlinie wird niederohmiger, besitzt also einen größeren Maximal-Strom und einen kleineren negativen Widerstand als die in Depolarisationsrichtung aufgenommene. Außerdem vergrößert sich die Hysterese fläche mit zunehmenden Abtastgeschwindigkeiten ebenso wie bei der K'-Depolarisation. In der mit $dV/dt = -30 \text{ mV/sec}$ aufgenommenen Veratridin-Kennlinie ist kein Übergangsbereich mehr nachweisbar, sie entspricht einer Gleichrichtercharakteristik, während die mit gleicher Geschwindigkeit in umgekehrter Richtung abgetastete Kennlinie eine ausgeprägte fallende Charakteristik mit stark vergrößertem I_{max} aufweist. Eine solche Hysterese ist der in einer K'-Kennlinie bei isotonischer KCl und 100-facher Abtastgeschwindigkeit vergleichbar. Dies Ergebnis gilt als weiterer Hinweis darauf, daß die Bedingungen für eine stationäre Messung der Veratridin-Kennlinie durch Abtastgeschwindigkeiten von $\approx 1 \text{ mV/sec}$ noch nicht erfüllt sind.

7) Vergleichbarkeit der Veratridin- und K'-Kennlinien

Die durch eine K'-Depolarisation hervorgerufenen Erscheinungen sind vollständig reversibel, d.h. die vor Beginn und im Anschluß an die Registrierung einer vollständigen K'-Kennlinienschar aufgenommenen Gleichrichterkennlinien bei Normal-Ringer-Bespülung zeigen den gleichen Verlauf. Dagegen ruft Veratridin bleibende Veränderungen des Kennlinienverlaufs (besonders im Hysteresebereich), sowie der Einstellgeschwindigkeit hervor. Diese Veränderungen sind auch durch eine längere Bespülung mit Normal-Ringerlösung nicht rückgängig zu machen, selbst wenn sich das ursprüngliche Ruhepotential wieder einstellt. In der Irreversibilität der Meßergebnisse sehen wir einen Grund, alle aus Messungen an veratridinvergifteten Präparaten gezogenen quantitativen Schlüsse im Einzelnen mit größter Skepsis zu beurteilen.

8) Gehen die K^+ - und Veratridin-Kennlinien auf einen ähnlichen Mechanismus zurück?

Trotz der in Punkt 7 erwähnten unterschiedlichen Meßerfordernisse stimmen die Breite und bei Berücksichtigung der systematischen Verschiebung mit $[K^+]$ auch die Lage des Übergangsbereichs in den K^+ - und Veratridin-Kennlinien regelmäßig überein (Abb. 17c). Dies Ergebnis ist ein Hinweis auf einen zumindest ähnlichen Leitfähigkeitsmechanismus für Na^+ und K^+ . Der Leitfähigkeitsmechanismus, der dem in Breite und Lage konstanten Übergangsbereich zugrundeliegt, ist von besonderem Interesse, da er für das Auftreten des negativen Widerstandes und somit nicht nur für die Ähnlichkeit der stationären Kennlinien, sondern vor allem für die Verstärkereigenschaften der Membran maßgebend ist.

Es wurde ferner untersucht, ob nur die "normalen" K^+ - oder Veratridinkennlinien, oder ob darüber hinaus auch die Veränderungen dieser Kennlinien, die sich durch veränderte physikalische bzw. physikalisch-chemische Bedingungen in der Umgebung des Schnürrings hervorrufen lassen, einander ähnlich sind. Sofern wir annehmen dürfen, daß diese äußeren Einflüsse (Änderungen von pH, Osmolarität, Temperatur etc.) direkt an der stofflichen Struktur und damit an den molekularen Leitungsmechanismen der Membran angreifen, können wir aus dem Ergebnis weitere Schlüsse für die Beantwortung der Frage ziehen, ob beiden Kennlinien ein gemeinsamer Mechanismus zugrundeliegt, oder nicht.

Abb. 17c stellt das Ergebnis am Beispiel der Kennlinien dar, die registriert werden, wenn das äußere Lösungswasser vollständig durch D_2O ersetzt wird (siehe auch Abb. 33, sowie 2. Teil der Ergebnisse Abschnitt D2). In beiden Kennlinien tritt während der Bespülung mit D_2O -Lösungen eine Zunahme sämtlicher Widerstände, sowie eine Verschiebung von V_{Tr} in Depolarisationsrichtung auf. Der Betrag dieser Veränderungen ist in beiden Kennlinien etwa gleich. Dieses Ergebnis gilt als weiterer Hinweis darauf, daß der dem Leitfähigkeitsverhalten und insbesondere dem Übergangsverhalten zugrundeliegende Mechanismus für beide Kennlinien zumindest ähnlich, wenn nicht im Prinzip gleich ist.

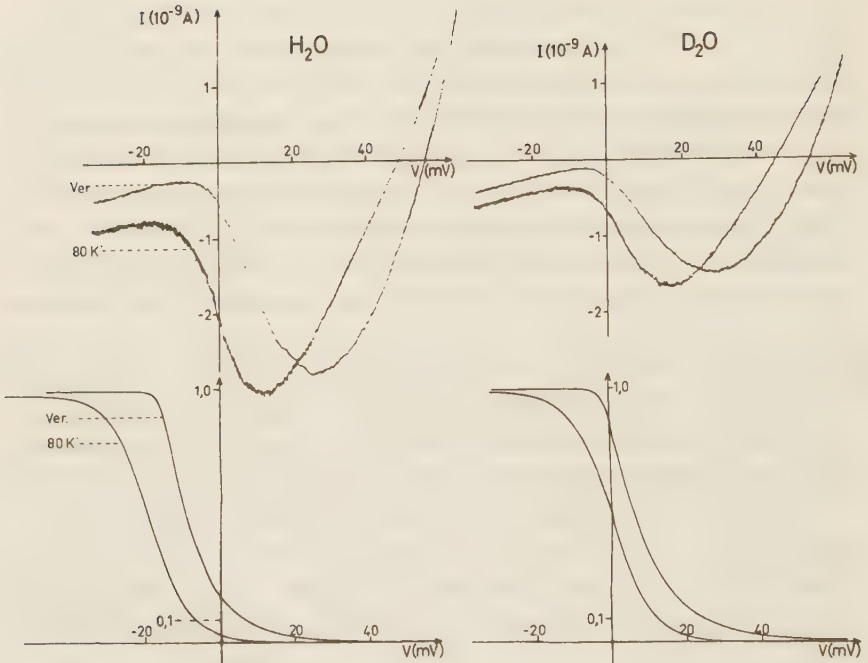


Abb. 17c Vergleich stationärer K^+ - und Na^+ (Veratridin)-Kennlinien, links: H_2O -Lösungen, rechts: D_2O -Lösungen (Originalreg. Schnürring 405/67, Abtastung der K^+ -Kennlinien $dV/dt = -1$ mV/sec, der Na^+ (Veratridin)-Kennlinien $dV/dt = -0,1$ mV/sec). Gleiche Breite des Übergangsbereichs ΔV_{Tr} in allen Kennlinien; gegenüber ΔV_{Tr} in den Na^+ -Kennlinien ist ΔV_{Tr} in den K^+ -Kennlinien um ≈ -10 mV verändert. D_2O -Lösungen bewirken eine annähernd gleiche Zunahme des Widerstandes in allen Abschnitten beider Kennlinien sowie eine Verschiebung des Übergangsbereichs beider Kennlinien in Depolarisationsrichtung.

Unteres Diagramm: Stufenfunktion $f(V) = (1 + e^{\alpha(V - V_{Tr})})^{-1}$ für die Nachberechnung der Originalkurven im oberen Teil der Darstellung. $f(V)$ ist ein Maß für Breite und Lage von ΔV_{Tr} . Gegenüber den Na^+ (Veratridin)-Kennlinien unveränderte Breite, jedoch um ≈ -10 mV veränderte Lage von ΔV_{Tr} in den K^+ -Kennlinien. D_2O -Lösungen bewirken Verschiebung von ΔV_{Tr} beider Kennlinien in Depolarisationsrichtung.

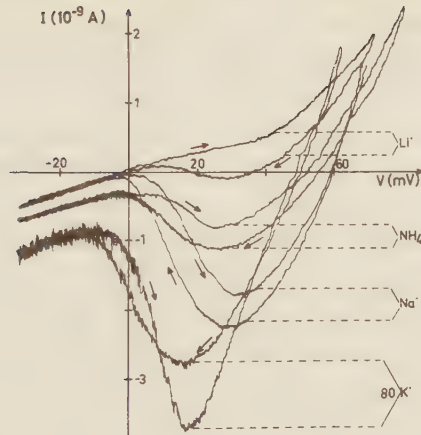


Abb. 17d Strom-Spannungs-Kennlinien während der Veratridindepolarisation. Die Lösungen enthielten entweder 110,5 mM/l Na^+ (Normal-Ringerlösung), Li^+ oder NH_4^+ . Zum Vergleich eine Kennlinie bei 80 mM/l $[\text{K}]_a$ ohne Veratridin (Originalreg. Schnürring 401/67, Anstiegssteilheit der Meßspannung $dV/dt = 1 \text{ mV/sec}$, Abtastrichtung durch Pfeile gekennzeichnet). Gleiche Lage und Breite des Übergangsbereichs in allen Veratridinkennlinien. Unterschiede dieser Kurven beruhen auf unterschiedlichen Beträgen von V_m , V_{mG} und R_{II} .

2. Substitution des $[\text{Na}]_a$ durch andere Ionen

Wird das Na^+ in veratridinhaltigen Ringerlösungen gegen K^+ ausgetauscht, so überwiegt bereits bei 40 mM/l $[\text{K}]_a$ das durch K^+ bestimmte Membranverhalten: das von der dV/dt -abhängige Verhalten geht auf den Wert in den Lösungen zurück, die die gleiche $[\text{K}]_a$, jedoch kein Veratridin enthalten, d.h. die Membran wird wieder "schneller". Der Kennlinienverlauf und insbesondere das Membranpotential sind ähnlich wie in veratridin-freier Lösung mit gleicher K^+ -Konzentration.

Veratridinhaltige Lösungen behalten ihre Eigenschaft, eine Depolarisation der Membran herbeizuführen, bei, wenn das Na^+ der Normal-Ringerlösung vollständig durch die Na^+ -Substituenten Li^+ , NH_4^+ , $\text{NHC}(\text{NH}_2)_2^+$ ersetzt wird (Abb. 17d). Andere Na^+ -Substituenten wurden in unseren Experimenten bisher nicht verwendet. Die Depolarisationsamplitude ist im einzelnen verschiedenen, am kleinsten bei Bespülung mit Li^+ -Ringerlösung. Auch bei der Verwen-

dung von Na^+ -Substituenten als Ladungsträger sind stationäre Kennlinien mit negativem Widerstand meßbar. Am Beispiel der Li^+ - und NH_4^+ -Kennlinie ist in Abb. 17d erkennbar, daß die Kennlinien sich im prinzipiellen Verlauf nicht ändern, wenn Na^+ durch Na^+ -Substituenten ersetzt wird. Das beruht auf der nahezu unveränderten Lage und Breite des Übergangsbereichs. Die Unterschiede in den Kurvenverläufen entstehen im wesentlichen durch Änderungen der Beträge von V_m , V_{mG} und R_{II} . Auf eine genauere Analyse dieser Kennlinien können wir daher in diesem Zusammenhang verzichten.

Die Ergebnisse zeigen, daß auch alle übrigen Kationen, die die Rolle des Na^+ im Ablauf des AP übernehmen können, an der veratridinvergifteten Faser ebenso wie Na^+ eine hohe stationäre Beweglichkeit erlangen. Sie beeinflussen dann durch ihren Konzentrationsgradienten das Membranpotential in ähnlich starkem Masse wie normalerweise nur das stationär bewegliche K^+ (Rb^+) und sind jetzt als Ladungsträger für den Nachweis des stationären negativen Widerstandes geeignet.

2. Teil der Ergebnisse

Beziehungen zwischen dem stationären und dynamischen Strom-Spannungsverhalten des Schnürrings

A. Einleitung und Fragestellung

Die Anwendbarkeit der Technik der "stationär eingepprägten Spannung" ist nicht ausschließlich auf die im 1. Teil der Ergebnisse dargestellte Messung der stationären elektrischen Membraneigenschaften beschränkt. Auch für weitere Untersuchungen, die es erfordern, daß jeder im Kennlinienbereich gelegene stationäre Arbeitspunkt festgehalten und somit ein beliebiger stationärer elektrische Zustand über längere Zeit fixiert werden kann, dient diese Technik als notwendige Voraussetzung. So ist es durch Kombination mit anderen Meßmethoden z.B. solchen, die lange Meßzeiten verlangen (z.B. optische Meßmethoden: Als Beispiel sei die gleichzeitige Feinstrukturanalyse mit lichtoptischen Methoden genannt, die zur Zeit in getrennten Untersuchungen durchgeführt wird.), aber auch z.B. mit dynamisch-elektrischen Meßmethoden möglich, noch zusätzliche Präparateigenschaften zu registrieren, die mit einem definierten stationären elektrischen Zustand verbunden sind.

Im Zusammenhang der vorliegenden Arbeit interessieren uns die Beziehungen zwischen Verstärkertätigkeit und stationärer Kennlinie, also zwischen Impulstätigkeit und stationären elektrischen Eigenschaften der erregbaren Membran. Um beides gleichzeitig untersuchen zu können, wurde die Versuchsanordnung zur Messung mit stationär eingepprägter Spannung (siehe Teil 1 der Ergebnisse) um Reizimpulsgeneratoren und Meßeinrichtungen für schnelle elektrische Vorgänge erweitert. Mit dieser modifizierten Meßtechnik, die im Beginn dieses Kapitels näher beschrieben wird, war es möglich, das stationäre und dynamische Strom-Spannungsverhalten - und daher z.B. den Ablauf des Aktionspotentials in Abhängigkeit von definierten stationären Arbeitspunkten im gleichen Experiment zu registrieren.

Fragestellung

Die mit dieser erweiterten Technik durchgeführten, im vorliegenden 2. Teil der Ergebnisse beschriebenen Messungen, zielten auf die Beantwortung der

Frage, ob die zu erwartenden qualitativen und quantitativen Beziehungen zwischen stationärem und dynamischem Strom-Spannungsverhalten des Schnürrings experimentell nachweisbar sind.

Da die stationäre fallende Charakteristik - wie eingangs (Abschnitt I, D) nachgewiesen wurde - eine notwendige Bedingung für das regenerative Verhalten eines Zweipols darstellt, folgen aus den Ergebnissen stationärer Messungen zwangsläufig spezielle Voraussagen für das dynamische Verhalten des Schnürrings. Nachstehend seien einige Voraussagen herausgegriffen, die durch das Experiment bestätigt werden müssen, ehe die Anwendung der Zweipol-Betrachtungsweise auch auf den dynamischen Funktionsablauf des Schnürrings als gerechtfertigt angesehen werden darf.

1. Ein Schaltelement mit fallender Charakteristik zeigt nur dann ein regeneratives Verhalten, wenn sein Arbeitsbereich den Bereich des stationären negativen Widerstandes - oder zumindest Abschnitte davon - einschließt. Auf den Schnürring übertragen folgt daraus, daß ein Aktionspotential nur dann auslösbar ist, wenn der Reiz nach Polarität und Amplitude geeignet ist, die Membranspannung vom Arbeitspunkt in den Bereich des negativen Widerstandes zu verschieben.
2. Das Ergebnis, daß der Schnürring eine stationäre fallende Charakteristik besitzt, steht mit seiner Funktion der Digital-Verstärkung in Einklang. "Reizschwelle" und "Repolarisationsschwelle" des Ausgangssignals werden beim Digitalverstärker in erster Linie durch die Spannungswerte V_{Imin} und V_{Imax} der stationären Kennlinie bestimmt. So ist zu erwarten, daß Depolarisations- und Repolarisationsschwelle sowie Amplitude des Aktionspotentials nur von diesen Spannungswerten und nicht vom stationären Arbeitspunkt auf der Kennlinie abhängig sind.
3. Aus (2) folgt, daß Einflüsse, die V_{Imin} verändern, eine entsprechende Veränderung der Reizschwelle verursachen werden.
4. Einflüsse, die die stationäre Kennlinie derart verändern, daß der Widerstand im Übergangsbereich positiv wird, bewirken ein Verschwinden des regenerativen Verhaltens.

Es sei vorweggenommen, daß sich diese Voraussagen, die eine Beziehung zwischen regenerativer Funktion und negativem Widerstand, sowie zwischen ausgezeichneten Spannungswerten des AP und der Kennlinie betreffen, zu-

mindest qualitativ bestätigen lassen. Da somit der Nachweis gelingt, daß sich die Extremalbedingungen für die Funktion qualitativ aus der stationären Kennlinie ableiten lassen, erscheint die weitere Anwendung der Zweipol-Betrachtungsweise auf den Schnürring experimentell begründet.

Es ist von vornherein nicht zu erwarten, daß sich das gesamte AP allein aufgrund der stationären Kennlinie und der spärlichen Kenntnisse über Kapazitäten und ähnliche Eigenschaften des Präparates im Sinne einer Bindung in allen Phasen des Verlaufs quantitativ beschreiben läßt. Insbesondere für die regenerativ ablaufenden Phasen ist das selbst bei Tunnel-Dioden nicht der Fall, bei denen der gesetzmäßige Zusammenhang zwischen stationärer Kennlinie und dynamischem Schaltverhalten experimentell hinlänglich nachgewiesen ist. Die Gründe dafür liegen in den Eigenschaften: 1. des Präparates und 2. der Meßeinrichtung.

1a) Alle Eigenschaften des Präparates, die durch parallel zum Schnürring geschaltete RC-Glieder ($R_A C_A$, $R_N C_N$ etc.) beschreibbar sind, bewirken eine frequenzabhängige Verzerrung der an der inneren Klemme des Schnürrings auftretenden Strom- und Spannungssignale. Die z.Zt. über diese Präparateigenschaften vorliegenden Meßergebnisse sind zu ungenau, als daß die für den quantitativen Vergleich stationärer und dynamischer Meßgrößen erforderliche Korrektur exakt durchgeführt werden könnte.

1b) Die Analyse quantitativer Beziehungen zwischen AP und stationärer Kennlinie setzt voraus, daß wir die während des AP wirksamen Realkomponenten der Membranwiderstände, also kurz die während des AP gültige Kennlinie bzw. Kennlinienschar im gleichen Experiment entweder direkt messen, oder aus der gemessenen stationären Kennlinie ableiten können. In der Darstellung der Ergebnisse wird gezeigt werden, daß die im gleichen Experiment alternierend gemessenen stationären Kennlinien nicht für alle Phasen des AP gelten. Die dem AP zugrunde liegende Kennlinienschar läßt sich zwar aus einer stationär gemessenen Kennlinie mit dem Membranpotential als Scharparameter nach Gleichung 15 und 17 direkt ableiten. Dieser Scharparameter ist jedoch eine Funktion der Zeit, und daher im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht eingehend analysiert. Untersuchungen über die während des AP gültige Zustandsfläche, die die quantitative Beschreibung auch dieser Funktion enthält, laufen bereits. Bevor diese Untersuchungen abgeschlossen sind, ist eine quantitative Zuordnung des AP zu einer Zustandsfläche noch nicht möglich.

2) Die elektrischen Ableitbedingungen sind für dynamische und stationäre Messungen am Schnürring grundsätzlich verschieden. a) unterscheiden sie sich durch die am Schnürring wirksamen Arbeitsgeraden, die notwendig verschieden sein müssen, b) bewirken die apparaturbedingten RC-Glieder (insbesondere die Eingangszeitkonstanten) eine zeitabhängige Verzerrung der Strom- und Spannungsimpulse in der Messung. Im Anschluß an die Beschreibung der Meßapparatur sind daher als Grundlage für den quantitativen Vergleich der stationären und dynamischen Meßergebnisse einige Vorbetrachtungen über die Unterschiede zwischen dynamischen und stationären elektrischen Messungen am Schnürring mit unserer Versuchsanordnung eingefügt.

B. Methode und theoretische Vorbemerkungen

1. Apparatur zur Registrierung der stationären Kennlinie und an beliebigen Arbeitspunkten intermittierend ausgelöster AP

Um den Ablauf der AP untersuchen zu können, die von beliebigen Arbeitspunkten auf der stationären Kennlinie auslösbar sind, wurde die bisher beschriebene Meßanordnung in der durch Abb. 18 schematisch dargestellten Weise erweitert. Zum Ausgang des Verstärkers A wurde ein Widerstand von $20 \text{ M}\Omega$ (R_3), sowie die Sekundärseite einer Isoliereinheit in Serie geschaltet. So können N_2 kurze Reiz-Strom-Impulse mit einem Bahnwiderstand $R_B^* > R_S$ aus einem Rechteck-Impulsgenerator (Mühlberg, Göttingen) über N_3 zugeleitet werden. Die Reiz-Strom-Impulse und die an N_2 auftretenden Aktionsströme wurden über den Widerstand $R_2 = 100 \text{ k}\Omega$ nach Erde geleitet. Der an R_2 entstehende, stromproportionale Spannungsverlauf wurde mit einem Zweistrahl-Oszillographen (Tektronix Type 502 A, bzw. Type 549) registriert.

N_1 ist mit dem Eingang des Impedanzwandlers IW (imperative Vorstufe, TOENNIES, Freiburg-Brg.) verbunden. Am Ausgang von IW liegt - zur Registrierung der schnellen Spannungsänderungen - der zweite Kanal des Oszillographen und außerdem über einen Tiefpaß (R-C-Glied) der Einprägestärker A. Durch den Tiefpaß ($\tau_{TP} = R \cdot C$) wird die Eingangszeitkonstante τ von A auf $\tau_{TP} = 10^{-1} \text{ sec}$ erhöht. Der Tiefpaß erfüllt in dieser Schaltung den Zweck, den Regelkreis zu verlangsamen, so daß dieser zwar für die Einstellung jedes Arbeitspunktes auf der stationären Kennlinie nahezu unverändert arbeitet, jedoch für die Ausregelung kurzer Rechteckimpulse, unterschwelliger Antworten und AP zu langsam ist. Vorgänge, die kürzer dauern als 10 msec, beeinflussen das Regelsystem, das die Spannung einprägt, deshalb kaum, d.h. sie können frei ablaufen.

Berücksichtigt man die Zeitkonstante τ_{TP} des Tiefpaßfilters und die Dauer t des als "breites Rechteck" angenommenen, schnell ablaufenden elektrischen Vorgangs $V(t)$, so liefert der Verstärker A während des Anstiegs am Ausgang die Spannung $U + \Delta U(t)$, wobei

$$\Delta U(t) = \left[I_{(P)} (R_3 + R_{N3} + R_A + R_{S(P)}) + V_{N3} - V_{N2} + V(t) \right] \cdot e^{-\frac{t}{\tau_{TP}}} \quad (21)$$

($R_2 \ll$ gegen alle übrigen R)

Die Spannung U wird mit der durch die Zeitkonstante bestimmten Trägheit solange nachgeregelt, bis der Zustand der stationär eingepprägten Spannung wieder erreicht ist. Die gleiche Betrachtung gilt selbstverständlich auch für die Abfall-Flanke des Signals.

Sind Reizimpuls, bzw. das durch den Reizimpuls ausgelöste Antwortsignal kurz gegen die Zeitkonstante des Tiefpaßfilters $t \ll \tau_{TP}$, so liefert der Verstärker am Ausgang weiterhin die Spannung

$$U = I_{(P)} (R_3 + R_{N3} + R_A + R_{S(P)}) + V_{N3} - V_{N2} \quad (22)$$

Der dem vor Beginn des schnellen Vorgangs eingestellten stationären Arbeitspunkt entsprechende $I_{(P)}$ ist der zur Einstellung des stationären Arbeitspunktes $V(P)/I(P) = R_{S(P)}$ notwendige Strom.

Da während des AP $V(P)/I(P)$ nicht erhalten bleibt, tritt durch Einwirkung des Verstärkers, der eine hohe Ausgangs-Zeitkonstante hat, an der Membran infolge der Änderung von R_S eine Spannungsänderung auf, die sich der aktiven Spannungskomponente des Präparates überlagert. U sorgt auch dafür, daß sich nach Beendigung des aktiven Vorganges der ursprüngliche Arbeitspunkt wieder einstellt.

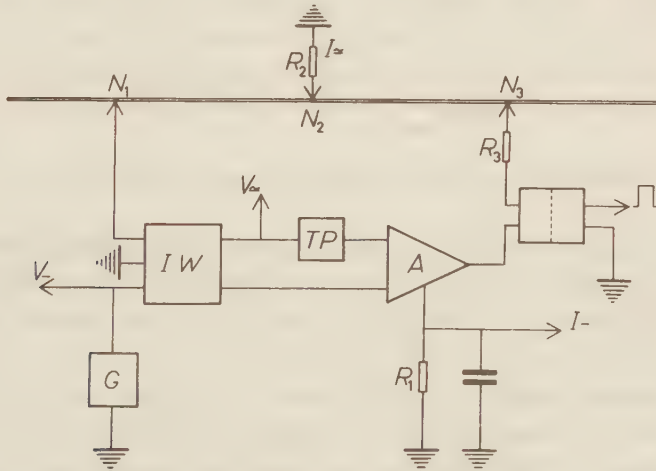


Abb. 18 Blockscheema der Meßanordnung zur Registrierung des stationären und dynamischen Strom-Spannungsverhaltens am einzelnen Schnürring. Die Schaltung der Abb. 6 ist erweitert durch den Impedanzwandler IW, den Tiefpaß TP (beide am Eingang des Operationsverstärkers A), eine Isoliereinheit, über die Reizimpulse zugeführt werden können (am Ausgang von A), einen zusätzlichen Bahnwiderstand R_3 und einen Ableitwiderstand R_2 . I - und V -Meßpunkte der stationären Strom-Spannungswerte; I_2 und V_2 -Meßpunkte für die schnell ablaufenden Strom- bzw. Spannungssignale. Erklärung siehe Text.

Auch in dieser Regelschaltung (Abb. 18) wird die Arbeitsgerade $R_{i\text{eff}}$ der Messung - ebenso wie in der ausschließlich für stationäre Messungen verwendeten Anordnung (Abb. 6) - durch den Verstärkungsfaktor μ des Verstärkers A bestimmt. Durch den Tiefpaß wird jedoch eine frequenzabhängige Verstärkung von A erreicht:

$$\mu = \mu_{\text{stationär}} \cdot \mu_{\text{dynamisch}} \quad \text{wobei}$$

$$\mu_{\text{dynamisch}} = \left(1 - e^{-\frac{t}{\tau_{\text{TP}}}}\right)$$

Für stationäre Vorgänge ($dV/dt \ll V/\tau_{\text{TP}}$) bleibt $R_{i\text{eff}} < |R_S|$ und damit die Spannung eingepreßt. Während schneller Vorgänge ($dV/dt \gg V/\tau_{\text{TP}}$) ist dagegen - wegen der großen Bahnwiderstände im stromführenden Kreis - eine Arbeitsgerade mit geringer Steigung ($R_{i\text{eff}} > R_S$) wirksam und daher eine Reizung und Ableitung mit eingepreßtem Strom möglich. Man erreicht dadurch, daß dem Schnürring, ausgehend von jedem beliebigen - auch im Bereich des stationären negativen Widerstandes gelegenen - stationären Arbeitspunkt, Reizimpulse zugeführt und nahezu ungestörte Antwortimpulse beobachtet werden können.

b) Zur Meßkritik der dynamischen Registrierungen

Bei einem Vergleich stationärer und dynamischer Registrierungen ist zu beachten, daß die Meßwerte schneller Strom- und Spannungsänderungen aus folgenden systematischen Gründen von den stationär gemessenen Werten abweichen:

1.) Bei der stationären Messung ist der Axonwiderstand R_A (Abb. 19) Bestandteil des Regelkreises, er wird "ausgeregelt", während er bei der dynamischen Messung als zusätzlicher Teil der Last wirkt (Reizung und Messung mit eingepreßtem Strom). Für diese dynamischen Messungen gilt daher ein anderes Spannungsteilerverhältnis als für die Messung mit stationär eingepreßter Spannung.

2.) Während schneller Strom- und Spannungsänderungen werden zudem kapazitive Eigenschaften des Präparates und der Meßapparatur wirksam.

Punkt 1 wird im folgenden Abschnitt eingehend besprochen. Die durch kapazitive Eigenschaften von Präparat und Meßapparatur bedingten Meßfehler werden in einer anderen Arbeit über die quantitative Zuordnung des AP zu einer Zustandsfläche eingehend analysiert (STANEK). Es seien nur einige, auch an einem geeigneten Modell leicht nachprüfbare grundsätzliche Betrachtungen vorweggenommen (siehe Abb. 19).

Ist $V_S(t)$ die Spannung an der inneren Klemme des Schnürrings N_2 , und $V(t)$ die am Schnürring N_1 mit dem Widerstand R_{N1} und der Kapazität C_{N1} (letztere in Abb. 19 nicht eingezeichnet) wirklich meßbare Spannungsänderung von N_2 , so gilt für langsame stationäre Änderungen

$$V = V_S \cdot \frac{R_{N1}}{R_A + R_{N1}}$$

Bei sehr schnellen Spannungsänderungen wird dagegen der kapazitive Teiler wirksam.

$$\tilde{V}(t) = V_S(t) \frac{1/C_{N1}}{1/C_A + 1/C_{N1}} = V_S(t) \cdot \frac{C_A}{C_A + C_{N1}}$$

Bei mittleren Geschwindigkeiten des Präparates wirken beide Komponenten (R und C) gemeinsam.

Die frequenzabhängige Verzerrung der an N_1 gemessenen Spannungsänderung $\tilde{V}(t)$ bewirkt, daß die Spitzenspannung des AP bei größeren oder kleineren Spannungswerten liegen kann, als wir nach der Lage von R_{II} der "Gesamtkennlinie" (siehe folgenden Abschnitt) zu erwarten hätten, je nachdem, ob $R_A/R_{N1} > C_{N1}/C_A$ ist. Im Höchstfall können die AP-Spitzenspannungen R_{II} der stationär gemessenen Kennlinie erreichen. Bei der Messung schneller Änderungen des Stromes spielen außerdem die Eingangs-RC-Glieder der Meßapparatur eine wesentliche Rolle. Die Verhältnisse sind hier komplizierter und werden daher an oben zitierter Stelle erörtert.

2. Ansätze einer quantitativen Beschreibung des AP aufgrund der stationären fallenden Charakteristik

Das im 1. Teil der Ergebnisse beschriebene stationäre Verhalten des Schnürrings ist gekennzeichnet durch

$$I = G(V) \cdot V \quad (23)$$

wobei $G(V)$ der spannungsabhängige Leitwert der Membran ist. Voraussetzung für die Messung von $G(V)$ ist eine genügend langsame zeitliche Veränderung der Meßspannung, so daß für jeden Meßpunkt im Strom-Spannungs-Diagramm die tatsächlichen Gleichstromwerte ($dV/dt \rightarrow 0$) gemessen werden.

Läßt man schnellere Veränderungen der elektrischen Größen $I(t)$ und $V(t)$ zu, so werden auch die zeitabhängigen Parameter des Schnürrings wirksam. Die Zuordnung (23) geht über in die Zuordnung (24)

$$I(t) = G(V, \frac{dV}{dt}, \frac{d^2V}{dt^2}, \dots) \cdot V(t) \quad (24)$$

Dabei ist $G(V, \frac{dV}{dt}, \dots)$ die charakteristische Funktion des Zweipols, die Strom und Spannung einander zuordnet und dabei den Betrag sowie die zeitlichen Ableitungen von V berücksichtigt.

In dem folgenden, stark vereinfachten Ansatz, der nur die V - und $\frac{dV}{dt}$ -abhängigen Parameter berücksichtigt, soll eine Möglichkeit des Zusammenhanges zwischen dem stationären und dynamischen Verhalten des Zweipols dargestellt werden. Der Ansatz

$$G(V, t) = G(V) + \frac{dV}{dt} \cdot C_s \quad (25)$$

geht von dem stark vereinfachenden Ersatzschaltbild des Präparates (Abb. 19) aus, in dem die zylindermantelförmige Membran, beschrieben durch $G(V)$, Gleichung (25), aus der Parallelschaltung des spannungsabhängigen Leitwerts $G(V)$ mit der als spannungsunabhängig angenommenen Membrankapazität C besteht. Die Zuleitungswiderstände über die Internodien und alle Möglichkeiten einer kapazitiven Einkopplung werden in Abb. 19 durch die R - C -Glieder $R'_A C'_A$, bzw. $R_A C_A$ symbolisiert. Während des dynamischen Betriebes wirken $R_A C_A$ und $R'_A C'_A$ als parallel zum Schnürring geschaltete Lastglieder.

Wenn wir zur Vereinfachung annehmen, daß die durch den Reizimpuls ausgelöste Reizantwort am Schnürring über den Impedanzwandler (IW) mit kapazitiver Nachführung als Spannung $V(t)$, d.h. stromlos ($R_{i\ IW} \rightarrow \infty$) und im zeitlichen Verlauf richtig ($C_{i\ IW} \rightarrow 0$) gemessen wird, können wir $R_A C_A$ vernachlässigen. Als Reizspannungsverlauf wählen wir das "breite Rechteck" und betrachten nur die Vorderflanke als echte Sprungfunktion:

vor dem Anstieg des Rechtecks $U_1(t) = 0; ; t < 0$
 Plateau des Rechtecks $U_1(t) = U_1; t \geq 0$
 ($\Delta t \sim 1$ msec, Dauer eines AP)

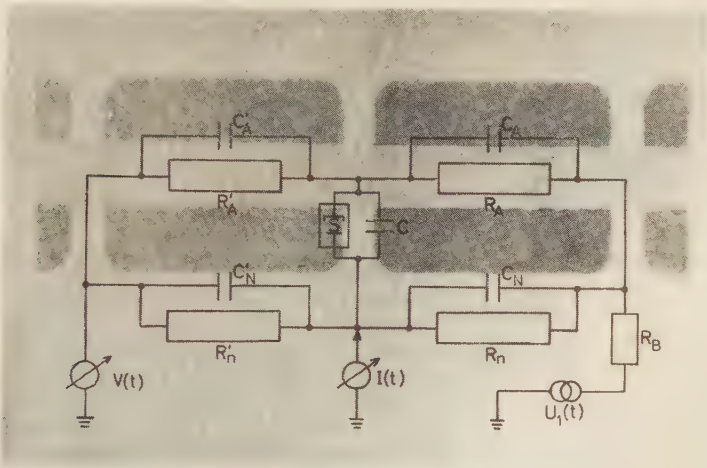


Abb. 19 Stark vereinfachendes Ersatzschaltbild für das Zusammenwirken der stationären und dV/dt -abhängigen Eigenschaften des Präparates während der Messung. Stationäre Eigenschaften siehe auch Ersatzschaltbild Abb. 7. Dynamische Eigenschaften; C Kapazität des Schnürrings; C_A , C'_A "innere" Kapazitäten beider Internodien; C_N , C'_N "äußere" Kapazitäten beider Internodien im Luftspalt. $U_1(t)$ Reizimpuls aus der Isoliereinheit, (Abb. 18) zugeleitet über den Bahnwiderstand $R_B^* = R_B + R_A$. $V(t)$ Meßpunkt der Spannungssignale; $I(t)$ Meßpunkt der Stromsignale.

Ist der stationäre Widerstand eines Schnürrings R_S bekannt, so läßt sich der Anstieg der Reizantwort nach folgender Formulierung als zeitabhängiger Spannungsverlauf berechnen (STANEK)

$$V(t) = U_1(t) \frac{R_S}{R_A + R_B + R_S} \left\{ 1 + \frac{1}{a-b} \left[(b-\tau)e^{-\frac{t}{b}} - (a-\tau)e^{-\frac{t}{a}} \right] \right\} \quad (26)$$

a , b und τ sind Zeitkonstanten, die sich aus $R_A C_A$, C , R_B und R_S berechnen lassen. Diese Formulierung wurde von STANEK entwickelt und zur Berechnung der Antwortimpulse des Schnürrings (bzw. eines Backward-Dioden-Modells) aufgrund der stationären Kennlinie verwendet.

Wie man sich leicht überzeugen kann, ist für

$$t = 0 \quad ; \quad V(t) = 0$$

und für

$$t \rightarrow \infty \quad ; \quad V(t) = U_1 \frac{R_S}{R_A + R_B + R_S}$$

Zur Erläuterung der Gleichung sei folgendes hinzugefügt. Die Gleichung läßt sich prinzipiell darstellen als additive Überlagerung zweier exponentiell abfallender Spannungskomponenten A und B und einer Konstanten C.

$$V(t) = U_1(t) \left\{ C + A \cdot e^{-t/b} - B \cdot e^{-t/a} \right\} \quad (24a)$$

Zur Erfüllung der obengenannten Randbedingung $t = 0$; $V(t) = 0$ muß gelten

$$A + C = B$$

Der zeitliche Verlauf der Spannung am Schnürring $V(t)$ ist in Abb. 20 durch Addition der Einzelkomponenten A, B und C für die Antwort auf einen unter-schwelligem Reiz (Abb. 20a) und für den Anstieg eines AP (Abb. 20b) dargestellt. Der Verlauf Abb. 20a gilt, solange sich $|R_S|$ nicht wesentlich ändert. Die Antwort Abb. 20b entsteht dadurch, daß sich die Werte von $|R_S|$, die in der Zeit durchlaufen werden, stark ändern und nach einer bestimmten Zeit t_V negativ werden. Nach einer weiteren Zeit t'_V kehrt der Exponent von $e^{-t/b}$ sein Vorzeichen um. In diesem Zeitpunkt erfolgt ein steiler Anstieg von $V(t)$, d.h. das AP wird ausgelöst. Die Bedingung dafür ist gegeben, wenn

$$|R_S| = |R_{Tr}| \leq |R_A + R_B| \quad (\text{siehe Gl. 4})$$

Der steile Anstieg des AP dauert an, solange diese Bedingung erfüllt bleibt. Im Zeitpunkt t'_V erfolgt wiederum ein Vorzeichenwechsel von b, da $|R_S| > |R_A + R_B|$ wird; der Anstieg des AP ist beendet (Abb. 20b).

Die Antwortimpulse beginnen also stets bei dem stationären Arbeitspunkt auf der Kennlinie (da $V = V_S + V(t)$) und nähern sich dem durch die stationäre Kennlinie und die Vorwiderstände gegebenen Wert. Der zeitliche Verlauf $V(t)$ während des Anstiegs wird durch die beiden Exponentialfunktionen mit den Zeitkonstanten a und b bestimmt. Wenn eine der beiden Zeitkonstanten ihr Vorzeichen wechselt, dann wird aus der fallenden Exponentialfunktion eine steigende. Die am Digitalrechner durchgeführten Berechnungen zeigen, daß ein regenerativer Anstieg der Spannung auftritt, sobald

$$|R_S| = |R_{Tr}| < |R_A + R_B|.$$

Also bestätigen diese Ergebnisse erneut, daß die Bedingung für ein regeneratives Verhalten nur dann gegeben ist, wenn die Summe der Realteile aller Zuleitungswiderstände und des Membranwiderstandes negativ wird.

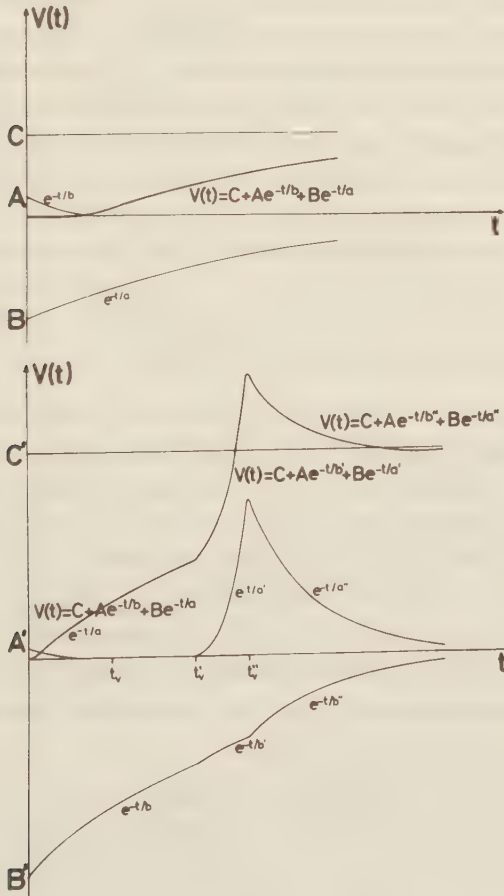


Abb. 20 Graphische Darstellung der Lösung von Gleichung 24.
 Lösung für unterschwellige Erregung (oberes Diagramm),
 Lösung für überschwellige Erregung (unteres Diagramm).

Ähnliche Betrachtungen, wie sie vorstehend für einen Spannungsumschlag bei einem Instabilitätspunkt nahe V_{Imin} vom hochohmigen zum niederohmigen Ast, also für den Anstieg eines AP durchgeführt wurden, gelten vice versa auch für einen Spannungsumschlag in umgekehrter Richtung, also für die Repolarisationsphase des AP.

Die Existenz einer Kapazität vorausgesetzt, hängt die Bedingung für das regenerative Verhalten folglich nur von den ohm'schen Widerständen ab, nicht aber von den Kapazitäten. Kennt man also die stationäre Kennlinie, wie sie für die "Anschlußklemme" an der Innenseite der Membran gültig ist, und kennt man außerdem die ohm'schen Anteile der Zuleitung durch das Axon, so kann man für ein stationäres Strom-Spannungs-Diagramm mit ausreichend kleinem negativem Widerstand einen Spannungsbereich angeben, nämlich den Bereich negativen Widerstandes in der Gesamtkennlinie der Schaltung, in dem die Auslösung von AP möglich wird.

3. Die Verstärkereigenschaften des Schnürrings

Für das dynamische Verhalten ist also die Gesamtkennlinie von Meßanordnung und Präparat zusammen maßgebend. Die Gesamtkennlinie (R_{ges}) ergibt sich unter der Annahme, daß $R_i \rightarrow \infty$, durch Parallelschaltung des konstanten Widerstandes $R_B^* = R_A + R_B$ mit dem Membranwiderstand $R_S(V)$, der durch die stationäre Kennlinie angegeben wird. In Abb. 21 sind solche Gesamtkennlinien, die durch Kombination von Widerstandsgeraden R_B^* unterschiedlicher Neigung entstehen, durch Addition der Ströme konstruiert. Die gleichen Gesamtkennlinien können natürlich auch bei festem Vorwiderstand R_B^* durch Kombination mit entsprechend veränderten Membrankennlinien entstehen.

In Abb. 21a bleibt der Gesamtwiderstand $R_B^* + R_S$ für jedes beliebige V positiv, in Abb. 21b wird er im Bereich Tr unendlich und in Abb. 20c schließlich negativ.

In den Fällen der Abb. 21a und b liefert die Schaltung auf einen Stromreiz lediglich reizproportionale Antwortsignale. Freilich sind die Spannungssignale im Übergangsbereich der Gesamtkennlinie größer als wenn nur der Bereich des hochohmigen Astes oder gar des niederohmigen Astes angesteuert würde und zwar umso größer, je größer der Widerstand im Übergangsbereich ist.

Da das Präparat in diesem Fall (Abb. 21a) jedoch nicht regenerativ wird, zeigen die Antwortsignale an den äußeren Klemmen des Präparates keinen Alles-oder-Nichtscharakter und daher keine (Digital-)Verstärkung.

An einem Gesamtpräparat mit endlicher innerer Last, das einen Zweipol mit einem Bereich negativen Widerstandes in der Kennlinie (R_S) enthält, ist das Ausgangs-Stromsignal $\Delta I_{\text{Ausgang}}$ nie größer als das Eingangs-Stromsignal $\Delta I_{\text{Eingang}}$, wenn der Übergangswiderstand in der Gesamtkennlinie positiv ist ($\Delta I_{\text{Eingang}}$ und $\Delta I_{\text{Ausgang}}$ des Gesamtpräparates sind in der Abb. 21 nicht dargestellt). Trotzdem verstärkt der eingebaute aktive Zweipol im Bereich seines stationären negativen Widerstandes bereits den Strom (ΔI_a , Abb. 21). Der durch den inneren Lastwiderstand R_B^* fließende Strom ΔI_a ist größer als wir erwarten dürften, wenn nur Schaltelemente mit positiven Widerständen im Präparat vorhanden wären. Die von dem eingebauten Zweipol gelieferte Energie wird jedoch durch den inneren Lastwiderstand des Gesamtsystems R_B^* verbraucht, so daß an zusätzlich angeschlossenen äußeren Meßwiderständen keine Verstärkung mehr nachweisbar ist ($\Delta I_{\text{Ausgang}}/\Delta I_{\text{Eingang}} < 1$).

Bei einem Übergangswiderstand der Gesamtkennlinie $R_{Tr} \rightarrow \infty$ (Abb. 21b) wird die außen nachweisbare Stromverstärkung des Gesamtpräparates höchstens $\Delta I_{\text{Eingang}}/\Delta I_{\text{Ausgang}} = 1$; das System liefert keine Energie nach außen, scheint jedoch auch keine Energie zu verbrauchen. Grund dafür ist, daß die vom inneren Lastwiderstand verbrauchte Leistung durch den aktiven Zweipol mit fallender Charakteristik nachgeliefert wird, wenn der Bereich negativen Widerstandes angesteuert wird. Diesen Vorgang kann man sich leicht durch einen Vergleich von Abb. 21a und b überlegen.

Eine Stromänderung am Eingang ΔI_e bewirkt auf der Gesamtkennlinie im Bereich ΔV_{Tr} des Zweipols mit fallender Charakteristik eine Spannungsänderung von ΔV_e auf ΔV_a . Diese Spannungsänderung wird umso größer, je größer der Widerstand im Übergangsbereich der Gesamtkennlinie ist. Die gleiche Spannungsänderung gilt für alle parallel geschalteten Widerstände, also auch für R_B^* . Die für das gleiche ΔV_a erforderliche Stromänderung ΔI_a ist in R_B^* jedoch größer als ΔI_e , da die Neigung von R_B^* steiler ist, als die der Gesamtkennlinie im Übergangsbereich. Für die am inneren Lastwiderstand R_B^* gemessene Stromverstärkung μ_I gilt demnach

$$\mu_I = \frac{\Delta I_a}{\Delta I_e} > 1$$

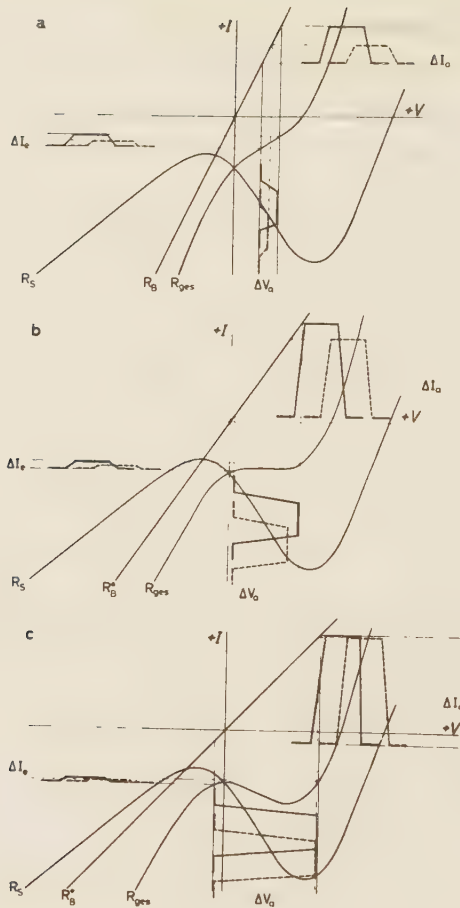


Abb. 21 Einfluß verschiedener Bahnwiderstände (innerer Lastwiderstände) R_B^* auf Gesamtkennlinie R_{ges} und Verstärkerfunktion des Präparates; schematisch. Membrankennlinie R_S ist als konstant angenommen. ΔI_e Eingangs-, ΔI_o Ausgangs-Stromsignal, gemessen an R_B^* . ΔV_a Ausgangs-Spannungssignal.

a) $|R_B^*| < |R_{Tr}|$ differentieller Widerstand im Übergangsbereich von R_{ges} positiv: analoge Stromverstärkung, nachweisbar an R_B^* . Der an einem äußeren Lastwiderstand nachweisbare Ausgangsimpuls des Gesamtpräparates ist abgeschwächt ($\Delta I_{Ausgang} < \Delta I_{Eingang}$, nicht eingezeichnet).

b) $|R_B^*| = |R_{Tr}|$ differentieller Widerstand im Übergangsbereich von R_{ges} ist unendlich ($R_{Tr} = \infty$). Analoge Stromverstärkung, nachweisbar an R_B^* . $\Delta I_{Ausgang} = \Delta I_{Eingang}$ an der äußeren Klemme (nicht eingezeichnet).

Abb. 21 Fortsetzung

c) $|R_B^*| > |R_{Tr}|$ differentieller Widerstand im Übergangsbereich von R_{ges} negativ. Digitale Verstärkung auch an einem äußeren Lastwiderstand nachweisbar, d.h. $\Delta I_{Ausgang} > \Delta I_{Eingang}$.

und für die Spannungsverstärkung μ_V

$$\mu_V = \frac{\Delta V_a}{\Delta V_e} = 1$$

Im Bereich V_{Tr} des Zweipols mit fallender Charakteristik findet an R_B^* eine Stromverstärkung und damit eine "innere" Leistungsverstärkung $\mu_L = \mu_I \cdot \mu_V > 1$ statt, obwohl die Gesamtkennlinie eine positive Neigung im Übergangsbereich hat. Es handelt sich um eine Analog-Verstärkung, da das Präparat nicht regenerativ wird. Diese Analogverstärkung ist nur an einem Modell, bei dem das Schaltelement mit fallender Charakteristik der Messung direkt zugänglich ist, nachweisbar, am Schnürring dagegen nicht.

Das gleiche gilt für den Spannungsbereich zwischen V_{Imin} der stationären Zweipol-Kennlinie (R_S) bis V_{Imin} der Gesamtkennlinie im Fall der Abb. 21c. Bevor V_{Imin} der Gesamtkennlinie erreicht wird, bleibt b positiv (Gleichung 24 und Abb. 20). Das Präparat ist noch nicht regenerativ und seine außen nachweisbare Leistungsverstärkung $\mu_L < 1$, obwohl die Membran selbst an R_B^* bereits analog verstärkt. Nur in Schaltungen, bei denen im Gegensatz zu unserem Präparat alle "inneren", R_A entsprechenden Bahnwiderstände der Messung zugänglich sind, der Zweipol also in einen 4-Pol aufgegliedert und als solcher untersucht werden kann, läßt sich auch im analog-verstärkenden Bereich (Abb. 21 c) eine Strom- und Leistungsverstärkung direkt messen. Der Spannungsbereich in dem Analogverstärkung von Reizimpulsen stattfindet, verrät sich bei Messung an einem äußeren Widerstand - also auch an unserem als Zweipol untersuchten Präparat - durch die nichtlineare Zunahme von Amplitude und Dauer der Antwortimpulse (siehe Abschnitt 2a dieses Kapitels, "Unterschwelliges Erregungspotential"). Zur Erklärung dieser Erscheinung müsste die Membran-Kapazität zusätzlich herangezogen werden (STANEK u. ALBRECHT-BÜHLER). Das gleiche Verhalten wird außer an der Nervenfaser auch an Tunneldioden beobachtet, die so geschaltet sind, daß sich Antwortimpulse von der Form des Aktionspotentials an ihnen auslösen lassen. An diesem einfachen Modell ist die Analogverstärkung am einfachsten zu studie-

ren, da Kennlinie und Bahnwiderstand und somit auch der analog-verstärkende Bereich bekannt sind und sich die Antwortimpulse gleichzeitig nicht nur am äußeren, sondern auch am inneren Lastwiderstand direkt messen lassen.

Bei Meßstromwerten $I < I_{\min}$ der Gesamtkennlinie (Abb. 24c), für die ja im Bereich I und Tr keine möglichen Arbeitspunkte mehr existieren (vgl. V_{I-II} Abb. 2), springt der Betriebszustand zu dem entsprechenden, auf R_{II} gelegenen Spannungswert über (vgl. V'_{I-II} Abb. 2), denn dies ist der einzige mögliche Arbeitspunkt auf der Gesamtkennlinie für $I < I_{\min}$. Der Strom ΔI_e wächst dabei ebenso sprunghaft auf ΔI_a an; wir sprechen von einer Digital-Verstärkung. Erst in diesem Fall ist eine Verstärkung des Präparates an einem äußeren Meßwiderstand nachweisbar ($\mu_L > 1$).

Im Fall der Abb. 21c gilt für die Gesamtkennlinie die durch Abb. 2 dargestellte Mehrdeutigkeit der Spannung für im Übergangsbereich gelegene Stromwerte, d.h. die Schaltung wird im Übergangsbereich instabil. Liegt der Arbeitspunkt P auf dem hochohmigen Ast einer solchen Kennlinie und wird mit positiven Strom-Impulsen zunehmender Amplitude gereizt, so wird die Reizantwort in der Zeit monoton flacher, solange der Widerstand der Gesamtkennlinie positiv ist. Im Punkt $V_{I\min}$ der Gesamtkennlinie kehrt b (Gleichung 24, Abb. 20) das Vorzeichen um: die Reizantwort wird plötzlich regenerativ und steigt steil an. Im Arbeitspunkt $P = V_{I\max}$ der Gesamtkennlinie wechselt der differentielle Widerstand wiederum sein Vorzeichen; da somit auch b ein zweites Mal sein Vorzeichen wechselt, wird die Antwort auf positive Reizimpulse ab $V_{I\max}$ wieder flach und reizproportional.

Zu genaueren Vorstellungen über die Abhängigkeit der Verstärkung vom Verhältnis $R_B / |R_{Tr}|$ führt die getrennte Betrachtung von Strom-, Spannungs- und Leistungsverstärkung. Die Stromverstärkung μ_I errechnet sich aus der Reihenschaltung von R_A , R_{Tr} (im folgenden mit r bezeichnet) Reizstromquelle $\Delta I_{(t)}$ und Stromquelle des Schnürrings, die Spannungsverstärkung aus der Parallelschaltung derselben Elemente (siehe Ersatzschaltbild Abb. 1a).

$$\mu_I = \frac{r}{R_A + r}$$

$$\mu_V = \frac{R_A}{R_A + r}$$

$$\mu_L = \mu_I \cdot \mu_V$$

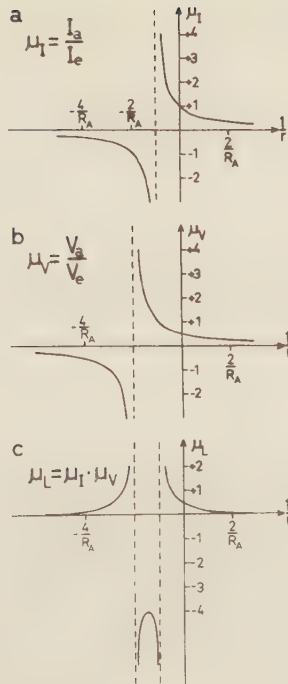


Abb. 21 II a-c Abhängigkeit der Verstärkung vom Verhältnis r/R_A .
a) Stromverstärkung μ_I ; b) Spannungsverstärkung μ_V ;
c) Leistungsverstärkung; digitale Leistungsverstärkung
($\mu_L < 0$, Erläuterung siehe Text) bei $-1/R_A > 1/r > -2/R_A$;
angrenzend analoge Verstärkung, solange $\mu_L > 1$.

Wird die Verstärkung gegen $1/r$ aufgetragen und dabei r in Einheiten von R_A unterteilt, so erhält man Abb. 21 II a-c. Für die Strom- und Spannungsverstärkung gilt allgemein, daß $r < 0$, wenn $\mu > 1$. Eingeschlossen von dem Bereich analoger Verstärkung $\mu_L > 1$ wird ein Gebiet, in dem Strom und Spannungsverstärkung verschiedenes Vorzeichen bekommen. Das hat formal eine negative Leistungsverstärkung vom Betrag $|\mu_L| > 1$ zur Folge (Abb. 21 II c). Es handelt sich hier um den Bereich digitaler Leistungsverstärkung. Strom und Spannung verlaufen gegenphasig, das Ausgangssignal ist dem Eingangssignal nicht mehr durch einen einfachen Faktor zuzuordnen, da die Schaltung regenerativ wird. Dieser Bereich digitaler, an einem äußeren Widerstand meßbarer Leistungsverstärkung ist definiert durch $-1/R_A > 1/r > -2/R_A$. Die Bedingung $-1/R_A > 1/r$ ist identisch mit Gleichung 4d im Abschnitt E der Einleitung. Die Bedingung $1/r > -2/R_A$ folgt aus der Überlegung, daß eine über $2/R_A$ hinaus zunehmende Leitfähigkeit wie ein Kurzschluß wirkt und daher eine Abschwächung verursachen muß.

Der negative Widerstand der wirklichen Membran-Kennlinie wird - anders als der differentielle negative Widerstand, für den die vorstehenden Betrachtungen uneingeschränkt gelten - von zwei Ästen positiven Widerstandes begrenzt. Außerdem verändert sich sein Wert zwischen dem in der Wendetangente (kleinster Wert) und dem an den Extrema (∞) kontinuierlich. So viel gilt jedoch auch hier. Da der Spannungswert für alle im Übergangsbereich der Gesamtkennlinie gelegenen Stromwerte doppeldeutig ist, springt die Spannung für Arbeitspunkte im Bereich Tr von V_I nach V_{II} , also auf einen Arbeitspunkt der auf dem niederohmigen Ast liegt. Die Schaltung wird regenerativ, es tritt ein Antwortsignal mit Alles- oder Nichtscharakter, d.h. ein AP mit einer festen Amplitude auf. Die Amplitude wird durch die Lage von R_{II} bestimmt (siehe Abb. 2).

Die Gültigkeit des Alles- oder Nichts-Prinzips setzt einen stationären negativen Widerstand voraus, dessen Betrag R_{Tr} in einem endlichen Spannungsbe- reich ΔV_{Tr} kleiner ist, als der gesamte innere Lastwiderstand R_B^* . Nur dann sind Reizantworten mit einer festen Amplitude auslösbar, die sich durch einen "leeren Bereich" in den Registrierungen von der unter-schweligen Antwort unter-scheiden. Durch geeignete Veränderung der Neigung von R_{Tr} bzw. von R_B^* erhalten wir indessen auch Präparate, für die das Alles- oder Nichts-Prinzip nicht gilt; maßgebend dafür ist der Vergleich von R_B^* und $|R_{Tr}|$.

Da V_{Imin} der Gesamtkennlinie, d.h. die Depolarisationsschwelle, bei größeren Spannungen liegt als V_{Imin} der stationären Zweipolkennlinie und die Spitzenpotentiale der AP wegen der Verschiebung von R_{II} der Gesamtkennlinie bei kleineren, kann die AP-Amplitude bei unveränderter Kennlinie nie größer sein als der Spannungsbereich V_{I-II} bis V_{I-II}' der stationären Kennlinie des Zweipols. Desgleichen erwarten wir, daß die Repolarisationsschwelle der AP innerhalb des Übergangsbereiches der stationären Kennlinie liegt. Werden dennoch AP mit größeren Amplituden gemessen und mit Repolarisationsschwellen, die bei größeren Depolarisationsspannungen liegen als V_{Imax} , so gelten hierfür andere Kennlinien.

C. Registrierung des stationären und dynamischen Verhaltens im gleichen Meßgang

1. Das regenerative Verhalten des Schnürrings in Abhängigkeit vom Arbeitsbereich auf der stationären fallenden Charakteristik

Um den Arbeitsbereich feststellen zu können, in dem sich der Schnürring regenerativ verhält, haben wir untersucht, von welchen Arbeitspunkten auf der

stationären Kennlinie durch positive Reizimpulse Aktionspotentiale auslösbar sind.

Um diese Experimente durchführen zu können, haben wir die Meßtechnik verwendet, mit der es möglich ist, jeden beliebigen Arbeitspunkt auf der Kennlinie stationär festzuhalten und ausgehend von hier schnelle Spannungsänderungen frei ablaufen zu lassen (s.S. 84).

Die Registrierung (Abb. 22) wird im Bereich des Gleichgewichtspotentials bei 80 mM/l $[K^+]_a$ begonnen. Die eingeprägte Spannung steigt mit 1 mV/sec in negativer Richtung stetig an. Gleichzeitig werden in regelmäßiger Folge überschwellige Reizimpulse gegeben.

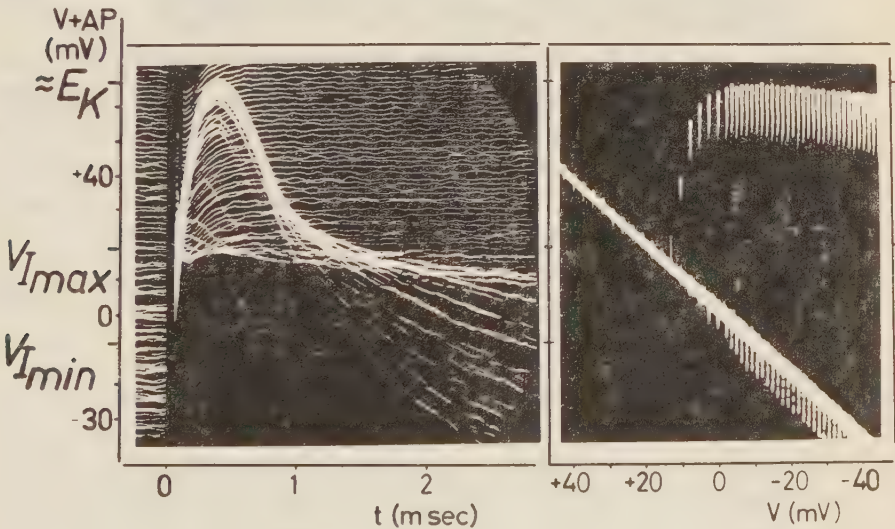


Abb. 22 Einfluß des Arbeitspunktes auf Verlauf (linkes Diagramm) und Amplitudenverteilung (rechtes Diagramm) von Aktionspotentialen bei 80 mM/l $[K^+]_a$ (Originalregistrierung Schnürring 303/65) Ordinate: Membranspannung bezogen auf Ruhepotential ($V=0$) in mV. Spannungswerte $\approx E_K$, $V_{\max}$ und $V_{\min}$ der gleichzeitig gemessenen stationären Kennlinie sind gesondert angegeben. Der stationären Spannung des Arbeitspunktes sind die AP überlagert. Abszisse linkes Diagramm: Zeit in msec; rechtes Diagramm: Spannung des stationären Arbeitspunktes in mV.

Zunächst sind selbst starke Reizimpulse nicht in der Lage, AP auszulösen. Die Unerregbarkeit bleibt bestehen, solange sich der Arbeitspunkt auf dem niederohmigen Ast befindet. Sobald jedoch das Strom-Maximum überschritten

und der Bereich des negativen Widerstandes erreicht ist, treten zunächst unterschwellige Erregungspotentiale (siehe folgenden Abschnitt) auf und erst bei einem Spannungswert, der gegenüber V_{Imax} um ≈ 5 mV in Polarisationsrichtung verschoben ist, schließlich Aktionspotentiale.

Die Amplitude der AP nimmt mit zunehmender Polarisation der Membran aus 2 Gründen stetig zu: 1. weil sich die Fußpunktspannung der AP mit dem Arbeitspunkt auf der Kennlinie zu größeren Polarisationsspannungen verschiebt und 2. weil die Potential-Spitze der AP zunehmend größere Depolarisationspannungen erreicht.

Sobald der Arbeitspunkt das Strom-Minimum überschritten und den hochohmigen Ast erreicht hat, bleibt die Potentialspitze trotz weiterer Verschiebung des Arbeitspunktes in negativer Richtung auf einem konstanten Wert (Abb. 23). Von V_{Imin} bis zur Durchschlagsspannung bleibt folglich auch die Amplitude des AP, d.h. die Spannungsdifferenz zwischen Spitzenspannung und Schwellenspannung, einem Spannungswert nahe V_{Imin} (siehe folgenden Abschnitt), konstant. Die Gesamtamplitude erhöht sich nun lediglich um den Spannungswert, um den der Arbeitspunkt auf dem hochohmigen Ast in negativer Richtung verschoben wird.

Wie die Meßbarkeit der fallenden Charakteristik zeigt, bleibt für stationäre Vorgänge auch in dieser Anordnung

$$\left| R_{\text{i eff}} \right| \ll \left| \left(\frac{dV}{dI} \right)^{\text{Tr}} \right|_{\text{max}};$$

die Spannung ist also trotz des Impulsbetriebes auch im Bereich des negativen Widerstandes stationär eingeprägt. Trotzdem lassen sich durch Rechteckimpulse mit einem Anstieg $dV/dt > \tau_{\text{TP}}$ Aktionspotentiale auslösen, wenn der Reiz den Bereich des negativen Widerstandes erreicht. Diese Tatsache zeigt, daß für schnelle Vorgänge - zumindest in einem bestimmten Bereich des negativen Widerstandes -

$$\left| R_{\text{i eff}} \right| > \left| \left(\frac{dV}{dI} \right)^{\text{Tr}} \right|_{\text{max}}$$

gelten muß.

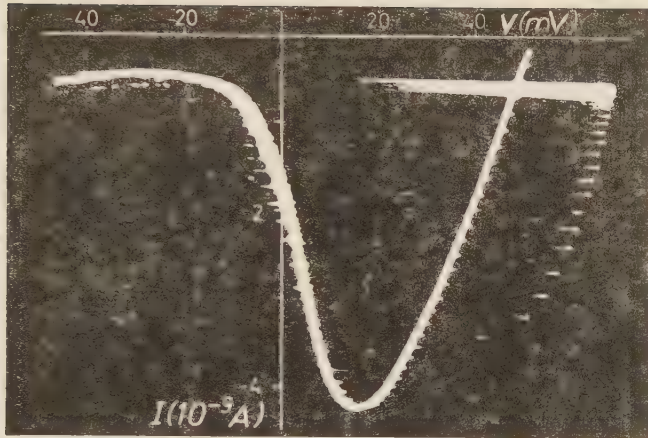


Abb. 23 Stationäre Strom-Spannungscharakteristik bei 80 mM/l K^+_{a} überlagert durch AP (Originalregistrierung Schnürring 302/65). Im Gegensatz zur Kennlinie sind die AP in dieser Darstellung keine Ortskurven, sondern nur Spannungsregistrierungen, bezogen auf einen konstanten Stromwert. AP, deren Spitzenpotentiale rechts von R_{II} liegen und deren Umhüllende parallel zu R_{II} verläuft, sind von Arbeitspunkten im Bereich des negativen Widerstandes ausgelöst (auf dem niederohmigen Ast lediglich Reizartefakte). Dicht beieinander liegende AP mit gleichen Spitzenspannungen sind von verschiedenen Arbeitspunkten auf dem hochohmigen Ast ausgelöst.

Die Bedingung für das regenerative Verhalten des Präparates besteht - wie einleitend dargestellt - d. h. in, daß

$$R_{\text{Tr}} < (R_{\text{B}} + R_{\text{A}})$$

d. h. der Betrag des stationären negativen Widerstandes kleiner ist, als die in Serie zur Membran geschalteten ohm'schen Komponenten (Realteile der Zuleitungswiderstände). Nur wenn der Strom des Reizimpulses an der Membran streng eingepreßt wäre, also $(R_{\text{B}} + R_{\text{A}}) \rightarrow \infty$, könnten wir erwarten, daß im gesamten Bereich des stationären negativen Widerstandes Aktionspotentiale auslösbar wären. Eine Reizung mit streng eingepreßtem Strom ist jedoch in Verbindung mit der Technik der stationär eingepreßten Spannung prinzipiell nicht möglich (da der Reizimpuls in dieser Anordnung über die stromzuführende Leitung am Ausgang des Regelkreises eingespeist wird, muß die Arbeitsgerade der Reizanordnung eine endliche Neigung haben).

Für positive Impulse mit regenerativem Anstieg, also auch für AP, gilt die Gesamtkennlinie; und zwar stellt V_{Imin} der Gesamtkennlinie die Depolarisationsschwelle (V_{DS}), V_{Imax} der Gesamtkennlinie die Grenze zur Unerregbarkeit, bzw. die Repolarisationsschwelle (V_{RS}), dar. Nach dem in den Ausführungen über die Gesamtkennlinie Gesagten erwarten wir, daß

$$V_{DS} > V_{Imin}$$

$$V_{RS} < V_{Imax}$$

und folglich der Bereich, in dem mit unserer Technik Aktionspotentiale auslösbar sind, kleiner ist als ΔV_{Tr} der gleichzeitig stationär gemessenen Kennlinie.

Abb. 23 läßt erkennen, daß die Grenze V_{RS} des Übergangsbereichs ΔV_{Tr} ges zum Spannungsbereich, in dem die Membran unerregbar wird, tatsächlich bei kleineren Spannungen liegt als V_{Imax} der gemessenen Kennlinie. Diese Verschiebung wird noch augenfälliger, wenn man berücksichtigt, daß der Übergangsbereich und damit auch V_{Imax} der bei erhöhter $[K^+]_a$ gemessenen Kennlinie gegenüber der für regenerative Spannungsänderungen verantwortlichen Na-Kennlinie ohnehin schon in Polarisationsrichtung verschoben ist (Ergebnisse I H und folgende Abschnitte). Die Depolarisationsschwelle (= Reizschwelle), also die Grenze V_{DS} , die zur Auslösung eines AP in Richtung nach positiven Spannungen überschritten werden muß, läßt sich diesen Ergebnissen jedoch nicht unmittelbar entnehmen. Um auch diese Grenze des Spannungsbereichs, in dem sich die Membran regenerativ verhält, experimentell feststellen zu können, wurde die Reizschwelle für verschiedene Arbeitspunkte auf der stationären Kennlinie bestimmt.

2. Schwellenspannung und Amplitude des AP; Beziehungen zu der während K^+ -Depolarisation meßbaren stationären Kennlinie

Als eine stationär meßbare Materialeigenschaft ist der Übergangsbereich in seiner Breite und den Spannungswerten seiner Grenzen unabhängig vom stationären Arbeitspunkt, von dem die Messung ausgeht. Der aus dynamischen Messungen bestimmte Spannungswert V_{RS} ist ebenso unabhängig vom Arbeitspunkt und steht in fester Beziehung zu V_{Imax} der stationär gemessenen Kennlinie. (Über die Abhängigkeit des Repolarisationsvorganges vom Arbeitspunkt

bei Fällen, in denen die Arbeitsgerade die stationäre Kennlinie in mehreren Punkten schneidet, siehe D3 dieses Kapitels.) Sofern tatsächlich eine aus der stationären K' -Kennlinie ableitbare Gesamtkennlinie für das AP maßgebend ist, erwarten wir, daß sich beide Grenzen von $\Delta V_{Tr ges}$ durch dynamische Messungen ermitteln lassen, daß also auch die Reizschwelle (Spannungswert V_{DS}) unabhängig vom stationären Arbeitspunkt konstant ist und eine feste Beziehung zu V_{Imin} der gemessenen Kennlinie aufweist.

Um das nachzuprüfen und ferner die genaue Lage der Schwelle im Strom-Spannungsdiagramm auch für Arbeitspunkte im Bereich des negativen Widerstandes festlegen zu können, haben wir die Schwellenspannung und den für ihr Erreichen erforderlichen Schwellenstrom in den folgend beschriebenen Experimenten direkt gemessen.

Es wurde die Amplitude des Reiz-Stromimpulses derart eingestellt, daß dieser bei konstantem Impulsabstand und konstanter, sehr langer Impulsdauer in statistischer Folge als überschwelliger und unterschwelliger Reiz wirksam war. Die Lage des Arbeitspunktes auf der stationären Kennlinie wurde mit einem x-y-Schreiber, Reizartefakt und Reizantwort getrennt nach Strom und Spannung mit einem 2-Strahl-Oszillographen registriert.

Als Maß für die Schwellenspannung diente uns die Amplitude des größten vorkommenden unterschwelligen Erregungspotentials des Schwellenpotentials (siehe nächsten Abschnitt), als Maß für den Schwellenstrom der Reizstrom, der zu der maximalen unterschwelligen Erregung geführt hat. Die stationären Arbeitspunkte wurden in Schritten von 2,5 mV über die gesamte Kennlinie verschoben und in gleicher Weise die zu jedem Arbeitspunkt gehörige Reizschwelle bestimmt.

a) Unterschwelliges Erregungspotential (EP)

Liegt der Arbeitspunkt im Bereich des niederohmigen Astes auf der stationären Kennlinie, so werden positive Reizstrom-Impulse beliebiger Amplitude - entsprechend der Zeitkonstanten von Präparat, Reiz- und Meßkreis - in Amplitude und zeitlichem Ablauf passiv verzerrt wiedergegeben. Bei Arbeitspunkten im Bereich des hochohmigen Astes werden negative Reizstromimpulse in ähnlicher Weise verzerrt, wenn $V_{(t)}$ diesen Bereich nicht überschreitet. Liegt der Arbeitspunkt auf dem hochohmigen Ast, so bewirken positive Reizimpulse, die die Membranspannung mindestens bis in den Bereich von V_{Imin} verschieben, Reizantworten des Schnürrings, die nicht einfach

durch passive Amplituden-Zeitverzerrung der Reizsignale an einem RC-Glied zustandekommen. Die "Aktivität" des Präparates wird erkennbar. Bleiben diese Reize unterschwellig, so spricht man von "unterschwelliger Aktivität" und bezeichnet die Reizantworten als unterschwellige Erregungspotentiale (EP), Abb. 24 c-e.

Amplitude und Dauer der EP nehmen mit der Reizstärke zu. Zwischen 0 und einem Wert, der stets kleiner ist als Spitzenspannung und Dauer des Aktionspotentials, nehmen die EP jede beliebige Amplitude und Dauer an. (Analogverstärkung am inneren Lastwiderstand bei $V_{\text{Imin}} < V_{(t)} < V_{\text{DS}}$ entsprechend Abb. 21; keine Energieabgabe nach außen.)

Überschreitet $V_{(t)}$ die Schwellenspannung des Präparates, so nimmt die Amplitude der Reizantwort mit einer Anstiegssteilheit dV/dt , die größer ist als während des EP, regenerativ zu, der Antwortimpuls ist "überschwellig"; er erreicht ein fest determiniertes Spitzenpotential und eine feste Dauer, d.h. der Antwortimpuls nimmt die nunmehr von der Form des Reizimpulses weitgehend unabhängige Form des Normimpulses, des Aktionspotentials (AP) an (Abb. 24 c-e). Das Präparat wirkt als Digitalverstärker, entsprechend Abb. 21 bei $V_{(t)} > V_{\text{DS}}$, und kann Energie nach außen abgeben.

Das EP ist zusammenfassend die Reizantwort auf unterschwellige Reize. Seine Amplitude erreicht im Höchstfalle das Schwellenpotential (SP), ist aber stets viel kleiner als die des AP. Gelegentlich auftretende Reizantworten, die zwischen SP und AP verlaufen (Abb. 24b, Abb. 28 bei 2,5 mM/l $[\text{Na}^+]_a$) sind umso seltener, je größer die Amplitudendifferenz zwischen AP und EP ist. Die zwischen den EP und AP gelegene, von keinem Antwortsignal durchzogene, "leere Fläche" ($v \cdot t$) in den Registrierungen ist ein markantes Merkmal für die regenerative Aktivität des Präparates.

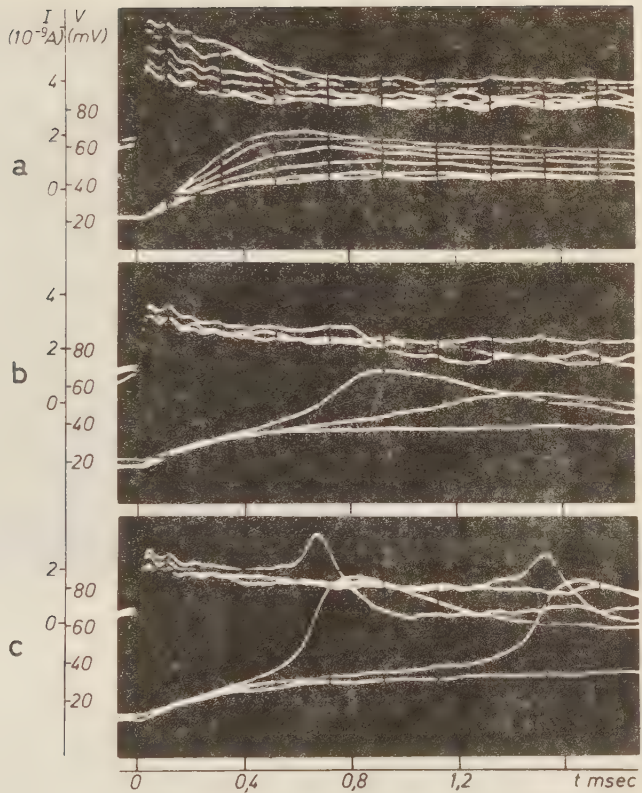


Abb. 24 a-c Strom- und Spannungsantworten des Schnürrings auf Rheobasenreize ($t_{\text{Reiz}} \gg 1 \text{ msec}$); Abhängigkeit der Antwortsignale vom stationären Arbeitspunkt. Ordinate: Strom (in 10^{-9} A), obere Kurve und Spannung (in mV) untere Kurve. Abszisse: t in msec. Teilabbildungen a-c in der Reihenfolge von oben nach unten. Die Lage der Arbeitspunkte der in a-c dargestellten Signale ist in Teilabb. f auf der gleichzeitig registrierten stationären Kennlinie markiert. (Originalregistrierung, Schnürring 324/66)

a) $V_P = +22,5 \text{ mV}$; keine AP, sondern ausschließlich EP, da $V_P > V_{RS}$. b) $V_P = +17,5 \text{ mV}$ Differenz der AP- und EP-Amplituden sehr klein, kein "leerer Bereich" zwischen AP- und EP-Spitzenspannung. c) $V_P = +10 \text{ mV}$, ausgeprägte AP. Verzögerungszeit wird mit abnehmender Reizstromamplitude größer. Stromantwort $I = dV/dt$ der gleichzeitig dargestellten Spannungsantwort.

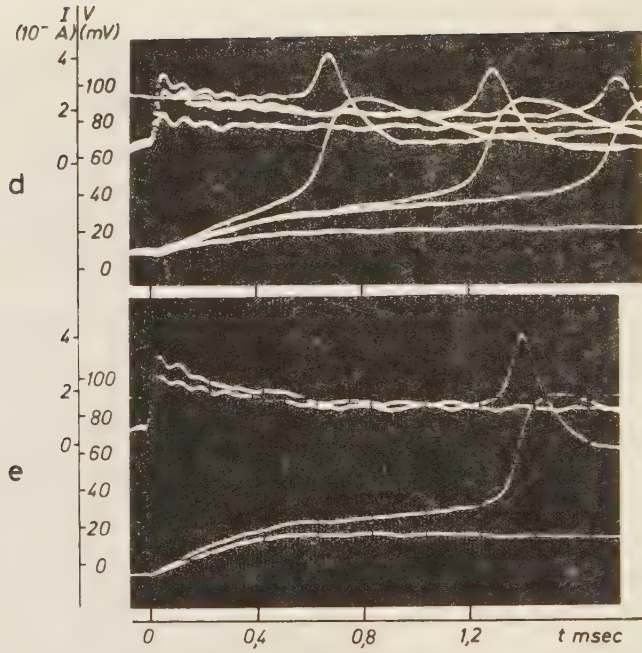


Abb. 24 d-e d) $V_P = +2,5$ mV. Ausgeprägtes regeneratives Verhalten. dV/dt des AP-Anstiegs wird mit zunehmender Verzögerungszeit flacher. e) $V_P = -7,5$ mV. Arbeitspunkt auf dem hochohmigen Ast. Steiler Anstieg des AP trotz großer Verzögerungszeit.

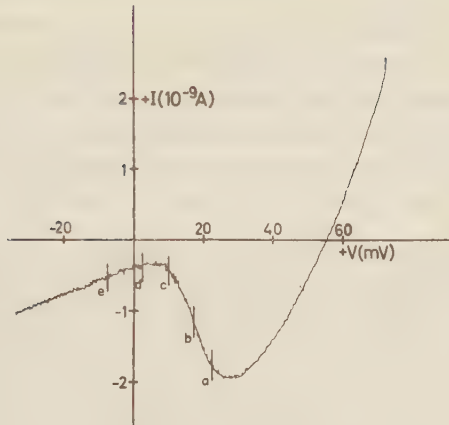


Abb. 24 f Im gleichen Meßgang mit den AP der Abb. 24 a-e registrierte stationäre Kennlinie ($80 \text{ mM/l } [K^+]_a$). Markierung der stationären Arbeitspunkte (Fußpunktstrom und -Spannung) der auf Abb. 24 a-c dargestellten Signale.

b) Depolarisationsschwelle; Schwellenspannung

Das Präparat liefert einen Normimpuls, wenn die durch den Reiz hervorgerufene Änderung der Membranspannung größer wird als die Amplitude des größten vorkommenden EP, das wir als Schwellenpotential SP bezeichnen. Die Spannung des SP bezogen auf Ruhepotential bezeichnen wir als Schwellenspannung. Um zeigen zu können, daß das Erreichen einer festen Schwellenspannung zur Auslösung eines AP führt - und nicht etwa eine vom Arbeitspunkt unabhängige feste Spannungsänderung an der Membran - wurden die Strom-Spannungswerte der SP zum Zeitpunkt der Maximalspannung als Punkte in das stationäre Strom-Spannungsdiagramm eingetragen und durch Geraden mit dem zugehörigen stationären Arbeitspunkt verbunden (Abb. 25). Als Schwellenstrom gilt der durch einen rechteckförmigen Reiz von sehr langer Dauer ($t \gg 1 \text{ msec}$, Rheobasenreiz) hervorgerufene, zum Erreichen der Schwellenspannung führende Membranstrom.

Abb. 25 zeigt, daß die Schwellenspannung für alle auf dem hochohmigen Ast gelegenen Arbeitspunkte einen annähernd konstanten Wert hat. Verschiebt man den Arbeitspunkt bis auf den Übergangsstast und auf diesem weiter in De-

polarisationsrichtung, so verschiebt sich auch die Schwellenspannung um wenige mV in Depolarisationsrichtung, bis die Membran, noch ehe V_{Imax} der stationären Kennlinie erreicht ist, unerregbar wird (Abb. 24a). In dem sehr kleinen Spannungsbereich an der Grenze zum Bereich völliger Unerregbarkeit beobachten wir Antwortimpulse, deren Anstiegssteilheit je nach der Reizstärke jeden Zwischenwert zwischen dem flachen Anstieg des EP und dem steilen regenerativen Anstieg des AP annehmen kann (Abb. 24b).

Obwohl sich das Präparat in diesem kleinen, nahe der Grenze zur Unerregbarkeit gelegenen Spannungsbereich bei starken Reizen bereits regenerativ verhält, findet sich noch kein "leerer Bereich" in den Registrierungen. Dies Ergebnis zeigt, daß das Präparat beim Auftreten eines "leeren Bereichs" zwar notwendigerweise regenerativ ist, daß jedoch ein regeneratives Verhalten nicht notwendig einen "leeren Bereich" hervorrufen muß. Es besteht immer eine endliche Wahrscheinlichkeit, daß eine Reizantwort zwischen größtem EP (=SP) und AP verläuft. Solche unbestimmten Antworten werden bei kleinen Unterschieden zwischen SP- und AP-Amplitude häufig beobachtet (Abb. 24b, Abb. 28 bei 2,5 mM/l $[\text{Na}^+]_a$), bei dem im Normalfall gemessenen Unterschied von 80-90 mV dagegen äußerst selten.

Im Spannungsbereich zwischen dem Arbeitspunkt, in dem Unerregbarkeit auftritt (V_{RS}), und V_{Imax} sind - ebenso wie im Spannungsbereich zwischen V_{Imin} und V_{DS} - lediglich EP auslösbar (Bereich der Analogverstärkung am inneren Lastwiderstand). Die Amplitude dieser EP nimmt umso mehr ab, je näher der Arbeitspunkt an V_{Imax} heranrückt, bis schließlich im Bereich des niederohmigen Astes nur passiv verzerrte Reizantworten zu beobachten sind.

Die Schwellenspannung (V_{DS}), die für Arbeitspunkte im Bereich von R_1 konstant ist, liegt nicht bei V_{Imin} - wie es bei Reizung mit exakt eingepprägtem Strom zu erwarten wäre - sondern um einen konstanten Betrag in positiver Richtung verschoben, also bei einem konstanten Spannungswert im Bereich des stationären negativen Widerstandes. (Die Verschiebung ΔV von V_{DS} gegenüber V_{Imin} der Kennlinie bei 80 mM/l $[\text{K}^+]_a$ überschreitet mit $\Delta V \approx 15 \text{ mV}$ die durch Erhöhung von $[\text{K}^+]_a$ von 2,5 auf 80 mM/l bedingte Verschiebung von V_{Imin} der stationären Kennlinie.) Dieses Ergebnis ist mit der Annahme, daß V_{DS} an V_{Imin} der stationären Kennlinie gebunden ist, nicht nur zu vereinbaren, sondern es muß unter dieser Annahme sogar gefordert werden, da die Reizung in unserer Anordnung nicht mit exakt eingepprägtem Strom erfolgt (B 3 dieses Abschnitts).

Die Messungen bestätigen, daß nicht nur $V_{\text{RS}} < V_{\text{Imax}}$, sondern auch daß $V_{\text{DS}} > V_{\text{Imin}}$. Der Bereich mit regenerativem Verhalten (AP, Digitalver-

stärkung) ist also, wie zu erwarten, kleiner als ΔV_{Tr} der stationären Kennlinie und wird nach beiden Richtungen von je einem Spannungsbereich begrenzt, in dem nur unterschwellige Aktivität (EP) möglich ist. Aus diesen Ergebnissen können wir schließen, daß eine aktive Reizantwort des Präparates nur dann erfolgt, wenn der Reiz den stationären negativen Widerstand einer für dynamische Messungen gültigen, analog der Abb. 21c ableitbaren Gesamtkennlinie, R_{ges} erreicht.

Wie gezeigt wurde, tritt die Bedingung für eine regenerative Spannungsänderung dann auf, wenn der Betrag des negativen Widerstandes kleiner wird, als die Summe der vorgeschalteten Anschlußwiderstände. Diese Bedingung wird offensichtlich bei einer bestimmten Membranspannung erreicht. Wir betrachten daher nur die durch den Reiz hervorgerufene Membranspannung als eindeutiges Maß für die Erregungsschwelle. Die Spannung des Reizartefaktes kann nicht als Maß für die Schwellenspannung gelten, denn die Kapazitäten des Internodiums und des Schnürrings bewirken während des Reizanstiegs und während der durch die Zeitkonstanten von $R_A C_A$, $R_N C_N$ und RC ($\approx 100 \mu\text{sec}$) gegebenen Zeit eine Verformung des Reizimpulses am Schnürring, die von der dV/dt der Flanken und der Dauer des Reizimpulses abhängt. (Auch eine direkte Einkopplung über Streukapazitäten in den Meßverstärker ist möglich.) Die Reizimpulse werden, da sie im allgemeinen eine Breite von $100 \mu\text{sec}$ und steilere dV/dt der Flanken haben, stärker verformt, als der Verlauf des EP und AP. Ein Vergleich der Reizartefakte mit den Reizantworten am Schnürring, z.B. ihre Verwendung als Maß für die Schwelle, ist deshalb, solange noch keine vollständige Meßkritik für die dynamische Stromregistrierung vorliegt, für das Verhalten des Präparates wenig informativ.

c) Der Schwellenstrom; Eigenschaften des Schwellenreizes

Während die an der Membran meßbare Spannungsänderung den Verlauf des rechteckförmigen Reizimpulses "anintegriert" wiedergibt, ist die meßbare Änderung des Membranstromes eine "andifferenzierte" Form des verursachenden Reizimpulses. Dabei bedeutet "andifferenziert" folgendes: Sei I_W der Impulsstrom, I der an der Membran gemessene Strom, so treten in dessen Beschreibung Faktoren $\mathfrak{I}_1$, $\mathfrak{I}_2$ auf, so daß $I = \mathfrak{I}_1 \frac{dV}{dt} + \mathfrak{I}_2 I$; ($\mathfrak{I}_2 = 1$). Diese Faktoren können spannungsabhängig sein. Um den Schwellenstrom feststellen zu können, verwendeten wir daher Stufenreize von sehr langer Dauer. Als Schwellenstrom bezeichnen wir den während eines solchen Rheobasenreizes ($t_{Reiz} \gg 1 \text{ msec}$) nach Erreichen des Plateaus meßbaren Membranstrom (nach $\approx 0,8 \text{ msec}$, siehe Abb.24).

Die Schwellen-Reizströme, die die Membranspannung vom Arbeitspunkt bis zur Schwellenspannung verschieben, sind im Bereich des hochohmigen Astes linear von der Spannung des Arbeitspunktes abhängig. Da die Schwellenspan-

nung für Arbeitspunkte auf dem hochohmigen Ast konstant ist, und der Schwellenstrom linear mit der Spannung des Arbeitspunktes ansteigt, liegen die Strom-Spannungswerte der Schwellenantwort auf einer Geraden parallel zur Ordinate (Abb. 25). Ferner verlaufen die Geraden, die die stationären Arbeitspunkte und die zugehörigen Strom-Spannungswerte des Reizes miteinander verbinden, für Arbeitspunkte zwischen V_{Imin} und der Durchschlagsspannung parallel zueinander.

Dasselbe Verhalten beobachten wir übrigens auch bei sehr kurzen Reizen mit Dauern von $t < 100 \mu\text{sec}$. Daraus könnte man schließen, daß sich die dV/dt -abhängigen Membraneigenschaften während des Reizes nicht ändern, d.h. daß der komplexe Widerstand für den Reiz konstant bleibt.

In den Aufnahmen von AP, die durch rechteckförmige Rheobasenreize ausgelöst wurden (Abb. 24 c-e) ist erkennbar, daß die Zeit bis zum Eintreten des regenerativen Anstieges (Verzögerungszeit) bei knapp überschwelligen Reizen stark von der Amplitude des Stromreizes abhängt (Reizzeit-Spannungs- oder besser Reizzeit-Strom-Beziehung). Bei solchen knapp überschwelligen Reizen entscheidet also deren Dauer, ob die Schwellenbedingung erreicht wird oder nicht.

Man weiß, daß die Angabe von Strom- und Spannungs-Beträgen zur Kennzeichnung des Reizes nicht ausreicht, sondern daß die Zeit multiplikativ mit eingeht (sog. Reizzeit-Spannungsbeziehung). Da I die unabhängige Variable für den Schwellenreiz und

$$\int I \cdot dt = Q,$$

wird deutlich, daß die durch den Reiz zugeführte Ladungsmenge Q für das Erreichen der Schwellenbedingung verantwortlich ist. Ein Schwellenreiz muß der Membran also eine je nach dem Arbeitspunkt unterschiedliche Ladungsmenge zuführen, die dadurch bestimmt ist, daß sie die Membranspannung auf den festen Wert der Schwellenspannung hebt. Die Auslösung eines AP stellt sich zusammengefaßt folgendermaßen dar:

1) Zur Auslösung eines AP ist das Erreichen einer konstanten Schwellenspannung erforderlich.

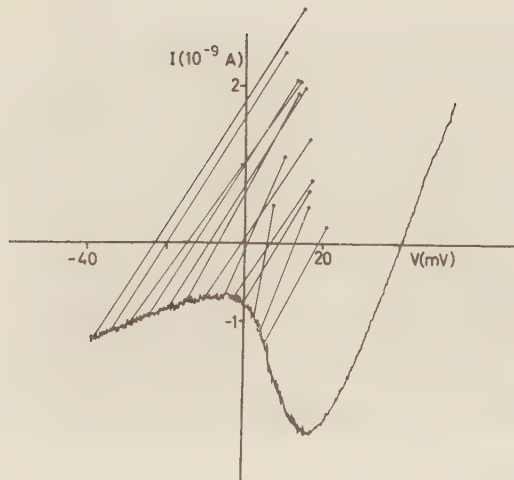


Abb. 25 Abhängigkeit der Reizschwelle vom Arbeitspunkt auf der stationären Strom-Spannungskennlinie bei 80 mM/l $[K^+]_a$; (Schnürring 321/66). Als Punkte eingezeichnet sind die zugeordneten Strom-Spannungswerte verschiedener Schwellenantworten. Jeder Schwellenreiz-Arbeitspunkt ist mit dem zugehörigen stationären Arbeitspunkt auf der Kennlinie durch eine Gerade verbunden.

2) Durch Reizung mit eingeprägter Spannung ist die Auslösung eines AP jedoch unmöglich. Nur die Reizung mit einer Stromquelle, deren Innenwiderstand größer ist als der Betrag des negativen Widerstandes in der Gesamtkennlinie, führt zur Auslösung eines AP. Ein Teil des Reizstromes geht in der Zeit bis zum Erreichen der Schwelle an ohm'schen Verlustwiderständen verloren. Ein anderer Teil dagegen wird an kapazitiven Anteilen aufintegriert und bewirkt eine Spannungsänderung an der Membran.

3) Wenn die Ladungsmenge, die der Membran durch den Stromreiz in der Reiz-Zeit zugeführt wird, ausreicht, um die Membranspannung auf die Schwellenspannung zu heben, wird der Spannungsanstieg durch die Membran regenerativ fortgesetzt und der determinierte Ablauf des AP beginnt.

d) Die Amplitude des "K⁺ - AP"

1) $[K^+]_a$ und $[Na^+]_a$ durch äquimolaren Austausch verändert

Wenn die Membranspannung durch einen überschwelligen Reiz mit einer Anstiegssteilheit von $dV/dt > 3000 \text{ mV/sec}$ in den regenerativen Bereich der Gesamtkennlinie verschoben wird, so treten an K⁺-depolarisierten Schnürringen Aktionspotentiale auf. Werden die AP vom stationären Arbeitspunkt aus als Spannungssprünge ohne Berücksichtigung des Membranstroms registriert, so stellen sie waagerechte Geraden im Strom-Spannungsdiagramm dar (Abb. 23). Obwohl der Aktionsstrom nicht berücksichtigt ist, gibt der Endpunkt dieser Geraden auch strommäßig die Lage der AP-Spitze im Strom-Spannungsdiagramm richtig wieder. Das kann man folgendermaßen begründen: Sei I_P der Strom des gewählten Arbeitspunktes auf der Kennlinie und I_a der Aktionsstrom, so setzt sich der gemessene Strom I zusammen aus $I = I_P + I_a$. Für den Zeitpunkt der AP-Spitzenpotentiale gilt aber $I_{\text{Spitze}} = 0$, so daß $I_{\text{Spitze}} = I_P$. Damit ist es richtig, die Spitze des Aktionsimpulses im Strom-Spannungsdiagramm parallel zur V-Achse anzutragen. (Vollständiges Strom-Spannungsdiagramm des Aktionsimpulses siehe Abb. 35 u. 36.)

Da Abb. 23 die Lage der Impuls-Spitze richtig wiedergibt, können wir an dem Ergebnis festhalten, daß die Impulsspitze nicht auf R_{II} der stationären Kennlinie liegt, sondern verglichen mit Spannung, die nach der Kennlinie dem Strom I_P entspricht, in Depolarisationsrichtung verschoben ist.

Eine auf R_{II} gelegene Spannung müßte indessen maßgebend sein für die Spitzenspannung des AP, wenn auch die AP-Amplitude durch die während einer K⁺-Depolarisation meßbare stationäre Kennlinie bestimmt würde. Außerdem müßte die AP-Amplitude mit zunehmender K⁺-Depolarisationsamplitude ebenfalls größer werden. Das Gegenteil ist aber der Fall (Abb. 26): die Amplitude der AP wird mit zunehmender $[K^+]_a$ kleiner und nähert sich erst bei $110 \text{ mM/l } [K^+]_a$ dem entsprechenden Strom-Spannungswert auf dem niederohmigen Ast der stationären Kennlinie.

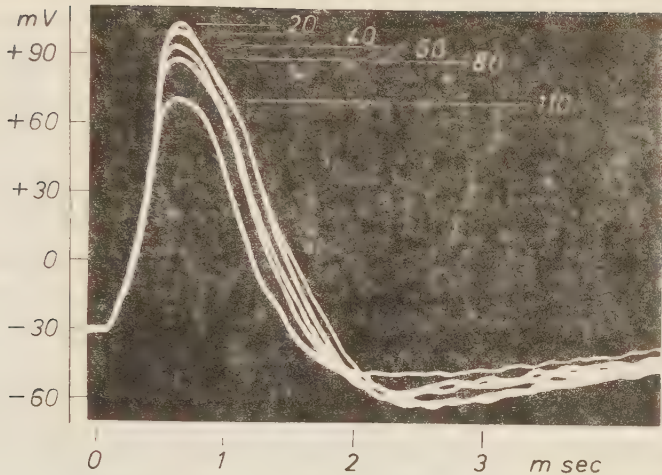


Abb. 26 Aktionspotentiale bei verschiedenen Werten erhöhter $[K^+]_a$ und gleichbleibender Fußpunktspannung ($V_P = -30$ mV); isosmolare Lösungen, Na^+ äquimolar gegen K^+ ausgetauscht (Originalregistrierung, Schnürring 338/66). Die horizontalen Striche geben die Lage der Spitzenspannungen, die Zahlen die $[K^+]_a$ in mM/l an, bei denen die verschiedenen Spitzenspannungen erreicht wurden. Abnahme des Spitzenpotentials mit zunehmender $[K^+]_a$ (gleichzeitig abnehmender $[Na^+]_a$). Das - nicht dargestellte - AP bei Ringerlösung hatte etwa die Amplitude des AP bei 20 mM/l und die Dauer der AP bei 110 mM/l.

Während der regenerative Bereich ($V_{DS} - V_{RS}$), in dem AP auslösbar sind, kleiner ist als ΔV_{Tr} der stationären Kennlinie, liegen die Spitzenpotentiale der AP außerhalb der stationären Kennlinie, d.h. bei größeren Depolarisationsspannungen als der niederohmige Ast. Dies Ergebnis spricht dafür, daß zwar der Auslösebereich der AP durch die während der K^+ -Depolarisation meßbare stationäre Kennlinie bestimmt sein kann, nicht aber die AP-Amplitude.

Die Abb. 23 gibt Aufschluß über eine weitere Tatsache, nämlich, daß die Umhüllende über die Spitzenpotentiale dieser " K^+ -AP" parallel zum niederohmigen Ast der bei erhöhter $[K^+]_a$ aufgenommenen stationären Kennlinie verläuft. Demnach wird die Amplitude der AP zwar nicht durch den niederohmigen Ast der während erhöhter $[K^+]_a$ meßbaren stationären Kennlinie selbst bestimmt,

jedoch durch den niederohmigen Ast einer anderen Kennlinie, dessen Neigung jedoch offensichtlich die gleiche ist.

Es könnte sich um eine Kennlinie handeln, die zwar durch die stationäre K^+ -Kennlinie bestimmt ist, zusätzlich jedoch dV/dt -abhängige Eigenschaften des Präparates und der Meßanordnung mit enthält, die eine Abweichung von R_{II} bedingen oder aber um eine Kennlinie, deren R_{II} -Verschiebung auf die Wirksamkeit eines anderen Ladungsträgers und dessen Konzentrationsgradienten auf das Membranpotential während schneller Vorgänge zurückgeht. Zur Entscheidung zwischen diesen Möglichkeiten und damit zur Identifizierung der während der Spitzenspannung der AP gültigen Kennlinie führen folgende Überlegungen.

An einem elektronischen Modell der Membran, die einen Zweipol mit einer stationären Kennlinie enthält, die der des Schnürrings gleicht (Backward-Diode), lassen sich AP-ähnliche Impulse auslösen, deren Spitzenspannung durch die Kennlinie bestimmt wird. Durch Veränderung der dV/dt -abhängigen Eigenschaften des Modells oder der Meßanordnung (RC-Glieder) läßt sich erreichen, daß die Spitzenspannungen der AP bei größeren Depolarisationsspannungen liegen als der niederohmige Ast der Gesamtkennlinie (jedoch höchstens auf R_{II} der Zweipol-Kennlinie). Auch hier verläuft die Umhüllende über die Spitzenpotentiale parallel zum niederohmigen Ast. Diese Umhüllende verschiebt sich jedoch in gleicher Richtung mit dem niederohmigen Ast der stationären Kennlinie, wenn deren Verlauf geändert wird. Im Gegensatz dazu verschieben sich der niederohmige Ast der stationär gemessenen Kennlinie und der niederohmige Ast, der durch die Umhüllende über die Spitzenpotentiale dargestellt wird, am Schnürring gegenläufig, wenn $[K^+]_a$ und $[Na^+]_a$ zur Einhaltung der Isosmolarität in entgegengesetzter Richtung geändert werden. dV/dt -abhängige Eigenschaften des Präparates sind also nicht in der Lage, die Meßergebnisse am Schnürring zu erklären.

Da sich die Umhüllende über die Spitzenpotentiale in entgegengesetzter Richtung wie V_K , aber in der gleichen Richtung wie V_{Na} ändert, liegt die Annahme auf der Hand, daß die Spitzenspannung der AP durch eine Kennlinie bestimmt wird, deren niederohmiger Ast die Abszisse nicht bei V_K , sondern bei V_{Na} schneidet. Die K^+ -Kennlinie unterscheidet sich von der Na^+ -Kennlinie, abgesehen von dem verschiedenen Verhalten von V_{mG} , nur durch eine geringe systematische Verschiebung von V_{Tr} , also der Lage des Übergangsbereichs

in Polarisationsrichtung mit $[K^+]_a$, R_I und R_{II} , sowie ΔV_{Tr} sind in der Na^+ - und K^+ -Kennlinie praktisch gleich. Unter äußeren Bedingungen, die die Erregbarkeit des Präparates nicht beeinträchtigen, ist nur die K^+ -Kennlinie stationär meßbar. Es besteht indessen die Möglichkeit, daß die für das AP gültige Kennlinie bei Kenntnis von V_{Na} aus der K^+ -Kennlinie hergeleitet werden kann, wenn sich experimentell nachweisen ließe, daß auch während der K^+ -Depolarisation die Spitzenspannung des AP durch V_{Na} bestimmt wird.

2) Messungen bei verändertem $[Na^+]_a$ und konstantem $[K^+]_a$

In den bisher verwendeten KCl-Konzentrationsreihen wurde zur Erhaltung der Isosmolarität K^+ gegen äquimolare Mengen Na^+ ausgetauscht. Um den Einfluß des $[Na^+]_a$ auf die Amplitude der AP bei nahezu unveränderter stationärer Kennlinie untersuchen zu können, wurden Kennlinien und AP nunmehr bei konstanter $[K^+]_a$ und zwar bei isotonischer KCl-Lösung (114,5 mM/l $[K^+]_a$ + 1,8 mM/l $CaCl_2$) aufgenommen, der ohne Rücksicht auf die Isosmolarität unterschiedliche Mengen Na^+ zugesetzt war. Geringfügige, durch die Hyperosmolarität der Außenlösung bedingte Kennlinienveränderungen traten erst bei 80 mM/l $[Na^+]_a$ auf.

Während der Bspülung mit isosmotischer KCl-Lösung, die kein NaCl enthält, zeigen die Antwortsignale in keiner Phase regenerativen Charakter, sie bleiben in ihrer Dauer und Amplitude von der Reizstärke abhängig. Das Fehlen des regenerativen Verhaltens ist am Fehlen des "leeren Bereichs" in den Registrierungen der Abb. 27 bei 0 mM/l $[Na^+]_a$ erkennbar. Die Amplitude dieser Reizantworten erreicht bei zunehmender Reizstärke einen Grenzwert, der trotz weiterer Zunahme der Reizstärke nicht überschritten wird. Dieser Grenzwert liegt bei V_K . Am Ende der Reizantwort erreicht die Membranspannung wieder den künstlich eingestellten Arbeitspunkt im Bereich von R_I , noch ehe der Regelkreis in Tätigkeit tritt.

Da diese Antworten keinen aktiven Charakter zeigen, sondern formal als passive Amplituden- und Zeitverzerrung des Reizimpulses zu verstehen sind, bezeichnen wir sie nicht als Aktions-, sondern als "Reaktionspotentiale". Reaktionspotentiale sind also Reizantworten, deren Spannung den gesamten Übergangsbereich ohne Anzeichen von Regenerativität durchlaufen. Sie weisen deshalb eine Maximalamplitude auf, die ebenso wie die des AP durch einen auf R_{II} gelegenen Spannungswert begrenzt ist. Beim RP tritt jedoch keine regenerative Spannungsänderung mit der für das AP typischen Anstiegs-

steilheit und deshalb auch keine Reizschwelle auf. In einem Bereich zwischen Spannungswert des Arbeitspunktes und Maximalspannung des RP bleibt die Amplitude der Reizantwort ähnlich wie die des EP von der Reizstärke abhängig. Das EP durchläuft jedoch nur einen Teil des Übergangsbereichs, nämlich den Spannungsbereich, in dem zwar die stationäre, nicht aber die Gesamtkennlinie einen differentiell negativen Widerstand aufweist (Abb. 21), ist also gegenüber dem RP durch das Vorhandensein einer Schwelle abgegrenzt. Eine weitere Form des RP wird in D1 dieses Abschnittes beschrieben.

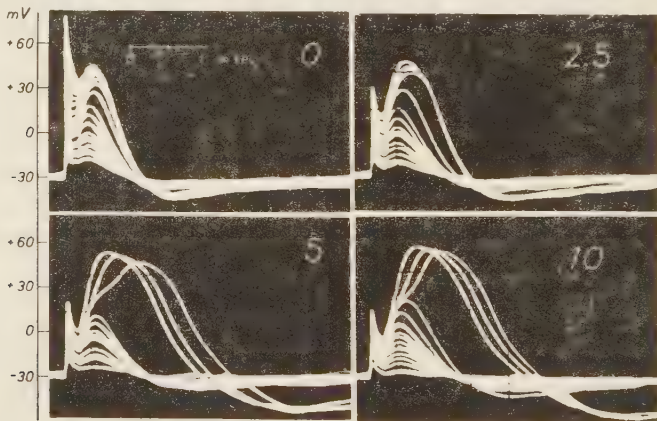


Abb. 27 Die regenerative Aktivität und ihre Abhängigkeit von der $[Na^+]_a$ bei konstantem Arbeitspunkt ($V_P = -30$ mV, Originalregistrierung, Schnürring 327/66). Jede Teildarstellung besteht aus der Superposition der bei repetitiver Reizung und veränderter Reizstärke erhaltenen Einzelregistrierungen. Die Zahlen in der rechten oberen Ecke jeder Teildarstellung geben die $[Na^+]_a$ in mM/l an. Bei 0 mM/l $[Na^+]_a$ sind nur RP auslösbar, bei 2,5 mM/l entsteht ein Bereich mit geringer Signalfrequenz. Bei $[Na^+]_a$ von 5 mM/l und mehr: deutliche regenerative Aktivität, gekennzeichnet durch den "leeren Bereich" in den Registrierungen zwischen EP und AP.

Wird der isosmolaren KCl-Lösung Na^+ zugesetzt, so sind Dauer und Amplitude der maximalen RP bereits bei 2,5 mM/l $[Na^+]_a$ deutlich vergrößert (Abb. 27). Es ist zwar noch kein "leerer Bereich" in diesen Registrierungen vorhanden, jedoch existiert bei Spannungen und Dauern die kleiner sind als die der RP ein Bereich, der seltener von Antwortsignalen durchzogen wird. Spannungs-

verläufe innerhalb dieses Bereichs werden mit weiter zunehmender $[Na^+]_a$ immer seltener, bis bei einer $[Na^+]_a$ zwischen 2,5 und 5 mM/l - trotz unveränderter stationärer Kennlinie - regenerative Aktivität mit der für das AP typischen Anstiegssteilheit dV/dt einsetzt, erkennbar am Schwellenphänomen und dem "leeren Bereich" zwischen den Registrierungen der EP- und AP-Verläufe (Abb. 27).

Mit zunehmender $[Na^+]_a$ wird die Amplitude der AP größer. Sofern der Arbeitspunkt auf dem hochohmigen Ast liegt, erreicht die Spitzenspannung etwa den mit der NERNST-Gleichung für das betreffende $[Na^+]_a$ (unter der Annahme, daß $[Na^+]_i = 13,5$ mM/l, FRANKENHAEUSER 1963) errechneten Wert (Abb. 28). Liegt der Arbeitspunkt im Bereich des negativen Widerstandes, so wird die Amplitude der AP kleiner, derart, daß die Hüllkurve über die Spitzenpotentiale parallel zum niederohmigen Ast verläuft.

Nach diesen Ergebnissen ist die regenerative Funktion der Membran mit der für das AP typischen Anstiegssteilheit an das Vorhandensein von Na^+ im Außenmedium gebunden. Es genügen dafür schon geringste Konzentrationen ($[Na^+]_a > 2,5$ mM/l). Die Spitzenspannungen der AP erreichen einen Wert nahe dem "theoretischen" Na^+ -Potential für den betreffenden Konzentrationsgradienten an der Membran.

Die Umhüllende über die AP-Spitzenpotentiale schneidet die Abszisse jedoch nicht bei V_K sondern bei V_{Na} . So wird die Verschiebung des Abszissenschnittpunktes der mit gleicher Neigung wie R_{II} verlaufenden Umhüllenden über die Spitzenpotentiale gegenüber R_{II} der stationären K^+ -Kennlinie verständlich, wenn der parallel zu R_{II} verlaufende Abschnitt der Umhüllenden als R_{II} einer Na^+ -Kennlinie betrachtet wird. Im 1. Teil der Ergebnisse (H1) wurde gezeigt, daß die für die Spitzenpotentiale geltende Na^+ -Kennlinie der stationären K^+ -Kennlinie zumindest sehr ähnlich ist und sich daher ohne große Fehler mit den obengenannten Arbeitsformeln aus der K^+ -Kennlinie ableiten läßt, wenn man berücksichtigt, daß der Abszissenschnittpunkt von R_{II} nunmehr bei V_{Na} liegt. Der Bereich, in dem AP gestartet werden können, läßt sich deshalb bei Berücksichtigung der systematischen Fehler auf jede stationäre K^+ -Kennlinie zurückführen, sofern der Übergangsbereich vollständig ausgebildet ist; das gilt für Kennlinien bei $[K^+]_a > 30$ mM/l.

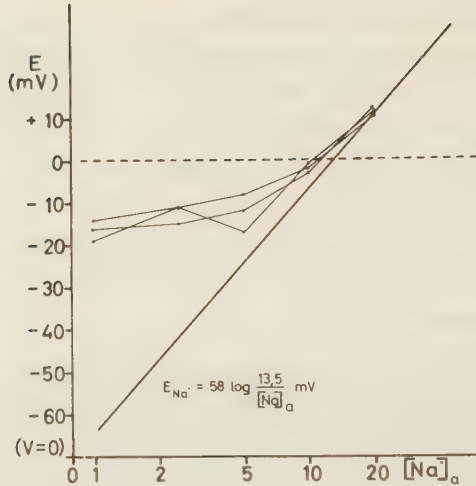


Abb. 28 Spitzenspannung der AP bzw. RP bei konstanter $[K^+]_a$ und veränderter $[Na^+]_a$ (3 Experimente). Ordinate: Absolute Membranspannung $E = (V = +70 \text{ mV})$ in mV; Abszisse: $\log [Na^+]_a$ in mM/l. Spitzenspannung der RP (Punkte) bei 0 mM/l erreicht die Depolarisationsspannung für $[K^+]_a = 114,5 \text{ mV}$. Spitzenspannung der AP bei $[Na^+]_a > 5 \text{ mM/l}$ nahe der theoretischen Na^+ -Geraden für $[Na^+]_i = 13,5 \text{ mM/l}$.

e) Die Repolarisationsschwelle

Ebenso wie für die Depolarisationsschwelle und das Spitzenpotential des AP erwarten wir auch für die Repolarisationsschwelle Beziehungen zu den entsprechenden Strom-Spannungswerten der stationären Kennlinie. Wenn die stationäre Kennlinie auch für die Repolarisationsschwelle gültig wäre, müßte diese bei V_{Imax} der Gesamtkennlinie $= V_{RS}$, wegen der flacheren Arbeitsgeraden für Reiz und AP, also bei einem Spannungswert innerhalb des Übergangsbereichs der stationär gemessenen Kennlinie liegen. Es sei vorweggenommen, daß die Genauigkeit, mit der sich der Strom-Spannungswert der Repolarisationsschwelle festlegen läßt, im gegenwärtigen Zeitpunkt noch weit hinter der Genauigkeit für die Werte der Depolarisationsschwelle und Amplitude zurücksteht. So lassen sich vorerst nur grob-qualitative Vergleiche mit der stationären Kennlinie ziehen.

α) bei Normal-Ringerlösung

Die Repolarisation im Anschluß an das Spitzenpotential verläuft in zwei Abschnitten mit unterschiedlicher dV/dt . In der ersten Phase nimmt die Spannung zunächst langsam, fast linear ab, in der zweiten zunächst schneller, um dann exponentiell die Fußpunktspannung wieder zu erreichen. Am einzelnen AP ist die Zunahme der dV/dt an einem Knick im Verlauf der Repolarisation zu erkennen. Wird das AP von verschiedenen Arbeitsspannungen ausgelöst, so ändert sich die 1. Phase der Repolarisation nicht wesentlich, während dV/dt der 2. Phase umso stärker abnimmt, je stärker der Arbeitspunkt in positiver Richtung verschoben wird. Der Repolarisationsknick liegt - wenn sich das Außenmedium nicht ändert - innerhalb eines engen Spannungsbereichs, der unabhängig vom Arbeitspunkt in einer bestimmten Zeitspanne nach dem regenerativen Anstieg des AP erreicht wird. Da der Repolarisationsknick in den Registrierungen deshalb an der gleichen Stelle bleibt, wird der 2. Abschnitt des Repolarisationsverlaufs der von verschiedenen Arbeitspunkten ausgelösten AP hier fächerförmig aufgeteilt. Am Ende der exponentiell verlaufenden 2. Repolarisationsphase kehrt die Spannung wieder auf den vorher eingestellten stationären Arbeitspunkt zurück.

β) bei erhöhter $[K^+]_a$

Bei einem Ansteigen der $[K^+]_a$ im Austausch gegen $[Na^+]_a$ bleibt der Punkt der fächerförmigen Aufteilung nahezu unverändert. Da gleichzeitig die Höhe der von $[Na^+]_a$ abhängigen Spitzenpotentiale abnimmt, wird der Unterschied zwischen Spitzenpotential und Repolarisationsknick mit zunehmender $[K^+]_a$ zunehmend geringer und der Verlauf der ersten Repolarisationsphase flacher (Abb. 29). Außerdem verlängert sich ihre Dauer bei $[K^+]_a > 20 \text{ mM/l}$ um ca. $200 \mu\text{sec}$, um bei $[K^+]_a > 100 \text{ mM/l}$ wieder auf den Ausgangswert zurückzugehen. Im Zustand der verlängerten 1. Repolarisationsphase bildet sich eine flache Dachschräge mit einem besonders deutlichen Repolarisationsknick aus.

Auch die 2. Repolarisationsphase verläuft mit zunehmender $[K^+]_a$ langsamer. Im Anschluß an den Fächerschnittpunkt geht die Spannung in diesem verlängerten AP zunächst steil zurück, um in ein weiteres Plateau einzumünden, welches sich umso länger dehnt, je positiver die Spannung des Arbeitspunktes wird, d.h. je näher sie an den Arbeitspunkt heranrückt, von dem aus zwar noch ein regenerativer Anstieg, jedoch kein regenerativer Abfall mehr erfolgt. Dieses Plateau kennzeichnet das später zu besprechende "Anlegen" des Ak-

tionsimpulses an die stationäre Kennlinie. Der Stromspannungswert des 2. Plateaus ist von der Arbeitsgeraden für den Aktionsimpuls und vom stationären Arbeitspunkt abhängig. Nach Beendigung des 2. Plateau läuft die Membranspannung spontan, d.h. mit einer von den Präparateigenschaften, nicht aber vom Regelkreis bestimmten Zeitkonstanten exponentiell auf die Spannung des Arbeitspunktes zurück.

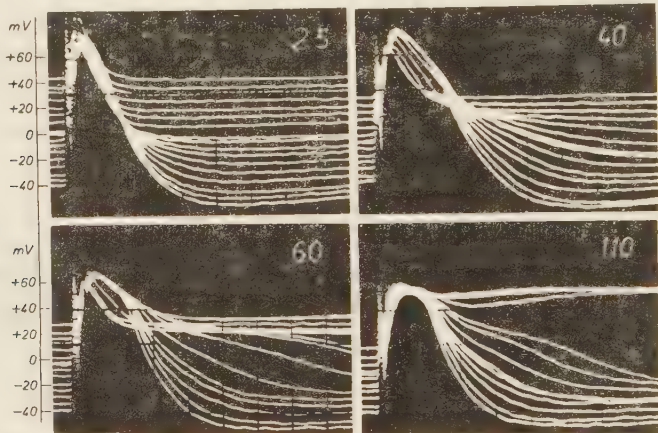


Abb. 29a Repolarisationsschwelle und "leerer Bereich" in der 2. Repolarisationsphase. Aktionspotentiale, ausgelöst von verschiedenen Arbeitspunkten zwischen $V_P = -40$ und $+20$ mV bei normaler und erhöhter extracellulärer K-Konzentration. Isosmotische Lösungen (K^+ gegen Na^+ äquimolar ausgetauscht.) Eingesetzte Zahlen geben $[K^+]_a$ in mM/l an.
(Originalregistrierungen, Schnürring 337/66)

Bei weiterer Verschiebung des Arbeitspunktes in positiver Richtung wird schließlich ein Wert erreicht, bei dem das AP nach einem regenerativen Anstieg und nach Erreichen des Fächerschnittpunktes zwar in negativer Richtung auf das 2. Plateau zuläuft, den Spannungswert des Arbeitspunktes jedoch nicht erreicht, sondern zurückläuft, um bei einem Spannungswert oberhalb des Fächerschnittpunktes nahe dem Membranpotential liegen zu bleiben. (Erst nach 10 msec setzt die Wirkung des Regelkreises ein und stellt die Ausgangsspannung in diesen Fällen künstlich wieder her.) Als Ursache dieses Schwellenverhaltens ist eine Membraneigenschaft zu vermuten, die auch für die Repolarisationsschwelle verantwortlich ist.

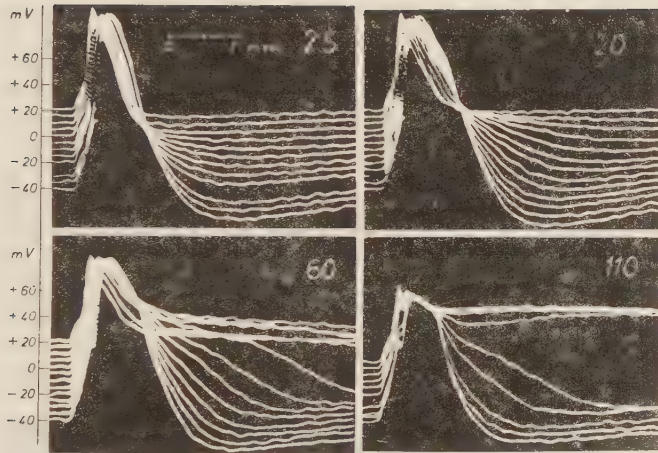


Abb. 29b Originalregistrierung, Schnürring 338/66.

Bei Arbeitspunkten, die sich mit zunehmender $[K^+]_a$ in negativer Richtung verschieben, wird die Steilheit der 2. Repolarisationsphase $dV/dt = 0$, d.h. die Repolarisation bleibt unvollständig (bistabiles oder flip-flop-Verhalten). Es bleibt eine Spannungsdifferenz zwischen Arbeitsspannung und der nach dem Anstieg des Impulses vorhandenen Membranspannung bestehen. Diese Spannungsdifferenz wird mit zunehmender $[K^+]_a$ größer (Abb. 29).

Zwischen dem letzten AP, das noch mit einer selbständigen Repolarisation zu Ende läuft und der Gleichspannung der nicht repolarisierten AP ist in den Registrierungen ein "leerer Bereich" dargestellt, der umso breiter ist, je höher die $[K^+]_a$ ansteigt. Dieser für ein Schwellenverhalten typische "leere Bereich" kennzeichnet die 2. Repolarisationsphase als ein regeneratives Zurückspringen. Er ist auf diese Weise darstellbar, da für Arbeitspunkte in einem bestimmten Abschnitt des negativen Widerstandes die Schwellenbedingung für ein regeneratives Zurückspringen nicht mehr erfüllt ist, während ein regenerativer Anstieg noch möglich ist.

In diesem Zustand wird der 1. Abschnitt der Repolarisationsphase kürzer. So geht die Gesamtdauer des AP, die mit ansteigender $[K^+]_a$ zunächst zugenommen hatte, bei 5,4 mM/l $[Na^+]_a$ wieder auf den Ausgangswert zurück, den sie bei 117 mM/l $[Na^+]_a$ hatte (Abb. 26), bis schließlich bei $[Na^+]_a < 5$ mM/l jede zu Aktionspotentialen führende Aktivität erlischt.

Im Experiment 337/66 (Abb. 29a) verschiebt sich die Spannung des Fächerschnittpunktes mit zunehmender $[K^+]_a$ ebenso wie das Membranpotential in positiver Richtung. In der gleichen Richtung verschiebt sich auch die Spannung, die sich einstellt, wenn keine spontane Repolarisation mehr eintreten kann. Sie liegt 10–20 mV unterhalb des Fächerschnittpunktes.

Im Experiment 338/66 (Abb. 29b) ist erkennbar, daß bei gleichbleibender Reizhöhe die Latenzzeit abnimmt, wenn der Arbeitspunkt in positiver Richtung verschoben wird. Die Anstiegsphase rückt also näher an den Reizbeginn. Gleichzeitig verläuft die 2. Repolarisationsphase zunehmend langsamer. Dabei überschneiden sich die von verschiedenen Arbeitspunkten aufgenommenen AP in eben diesem Abschnitt. Es ergibt sich also, daß alle AP nach einer bestimmten Zeit etwa den gleichen Spannungswert durchlaufen. Dieser Spannungswert liegt im Bereich des Ruhepotentials und verschiebt sich mit zunehmender $[K^+]_a$ wie das Membranpotential. Die Zeit bis zum Erreichen des Knicks beträgt bei 2,5 und 80 mM/l $[K^+]_a \approx 1$ msec und verlängert sich bei 20, 40 und 60 mM/l $[K^+]_a$ auf 1,2 msec. Bei 110 mM/l $[K^+]_a$ verringert sie sich wieder auf 0,9 msec. Wenn bei sehr niedriger $[Na^+]_a$ Depolarisations- und Repolarisationsschwelle verschwinden, ist natürlich auch kein Fächerschnittpunkt mehr nachweisbar.

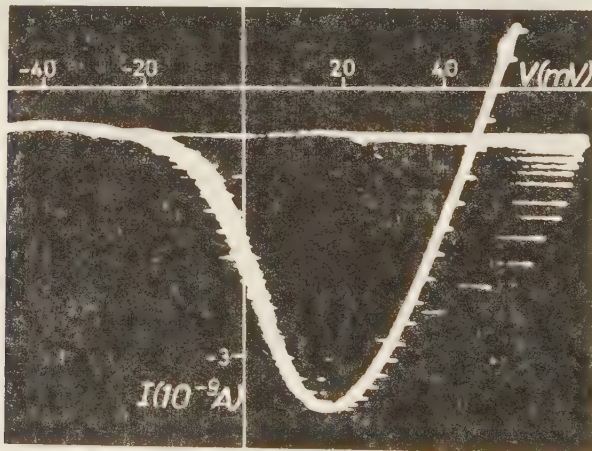


Abb. 30 Lage der Repolarisationsschwelle der AP innerhalb der stationären Kennlinie. (80 mM/l $[K^+]_a$, Originalregistrierung Schnürring 300/65.) Spannungsbereich der ersten Repolarisationsphase entspricht dem fetter erscheinenden Abschnitt der nadelförmig dargestellten AP (kleines dV/dt). Lage der Repolarisationsschwelle durch die punktförmigen Abschnitte nahe V_{Imax} angenähert wiedergegeben.

Nach diesen Ergebnissen könnte man vermuten, daß die Repolarisationsschwelle des AP bei einer Spannung liegt, die im Beginn der 2. Repolarisationsphase durchlaufen wird. Die Spannungsänderung dV/dt erfolgt hier besonders langsam. Daher wird dieser Abschnitt innerhalb des als "Nadel" registrierten AP auf dem Schirm des Oszillographen durch Zunahme der Helligkeit ($dV/dt = \text{const} \cdot 1/\text{Helligkeit}$) markiert. Wir haben diese Möglichkeit benutzt, die Lage der 2. Repolarisationsphase innerhalb des gleichzeitig registrierten stationären Strom-Spannungs-Diagramms grob-orientierend anzudeuten. In einer derartigen Registrierung (Abb. 30) liegt die 2-Repolarisationsphase eher außerhalb von ΔV_{Tr} (also bei größeren Spannungen als V_{Imax}) und nicht innerhalb, wie man unter der Voraussetzung erwarten müßte, daß sie ein Maß für die Repolarisationsschwelle und damit für V_{Imax} einer Gesamtkennlinie darstellt. Gegen das letztere spricht überdies, daß die 2-Repolarisationsphase bei verschiedenen Arbeitspunkten offenbar verschiedene Spannungswerte annimmt.

Für eine präzise Angabe über die Lage der Repolarisationsschwelle im Strom-Spannungsdiagramm reichen diese Messungen offenbar nicht aus. Um den Ablauf des Aktionspotentials und insbesondere des bisher noch ungenügend analysierten Repolarisationsvorganges im Hinblick auf die Beziehungen zur stationären Kennlinie untersuchen zu können, wurden folgende Registrierungen durchgeführt.

3. Die Ortskurve des Aktionsimpulses im Strom-Spannungs-Diagramm

Eine andere Möglichkeit festzustellen, ob der Aktionsimpuls, also die in komplizierter Weise in der Zeit ablaufenden Strom-Spannungsänderungen bei der Erregung, an die stationäre Kennlinie gebunden ist besteht darin, Aktionsstrom und -spannung als Ortskurve im Strom-Spannungsdiagramm darzustellen (Abb. 31). In Abb. 31a ist eine solche Ortskurve im gleichen Diagramm mit der stationären Kennlinie bei gleicher Außenlösung ($[K]_a = 80 \text{ mM/l}$) dargestellt. Der durch den AP-Anstieg registrierte Teil der Ortskurve verläuft im Diagramm oberhalb, der während der Repolarisation dargestellte unterhalb der stationären Kennlinie. Ähnlich wie die große Achse in der Phasenellipse eines RC-Gliedes liegt die stationäre Kennlinie annähernd als mittlere Kurve innerhalb der Ortskurve die das Strom-Spannungsverhalten während des AP darstellt.

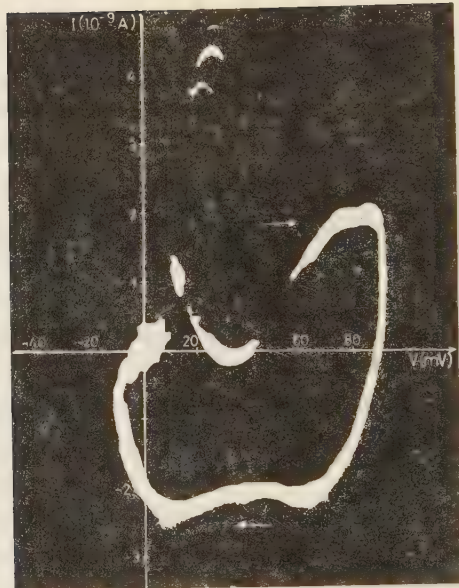


Abb. 31 Ortskurven frei ablaufender Aktionsimpulse (Original-Aufzeichnungen, Speicher-Oszillograph Tectronix 564, Schnürring 398/67). Depolarisations- und Repolarisationsphase des AP durch Pfeile gekennzeichnet, Depolarisationsphase nach rechts.

a) Ortskurven mehrerer Aktionsimpulse bei Normal-Ringerlösung. Oberhalb der Ortskurve Artefakte der Reizimpulse.

In ähnlicher Weise wie bei der Phasenellipse ist auch der Verlauf der Ortskurve vom Verhältnis der Kapazitäten am Meßobjekt und Meßeinrichtung abhängig. Mit einer Zunahme der Anstiegssteilheiten (dV/dt) im Verlauf des AP tritt eine zunehmende Aufspaltung der Ortskurven in Stromrichtung ein. Im Vergleich dazu ändern sich die gemessenen Spannungswerte bei den während des AP auftretenden Anstiegssteilheiten nur wenig (die Spannungswerte der Strom-Minima und Maxima in Abb. 31b und c sind nur verhältnismäßig wenig gegenüber den Werten der stationären Kennlinie verschoben).

Eine quantitative Rückführung der Ortskurve auf die stationäre Kennlinie ist gegenwärtig noch nicht möglich, da die Größe und Verteilung der Kapazitäten und Streukapazitäten des Präparates in der Versuchsanordnung noch nicht genau genug bekannt sind.

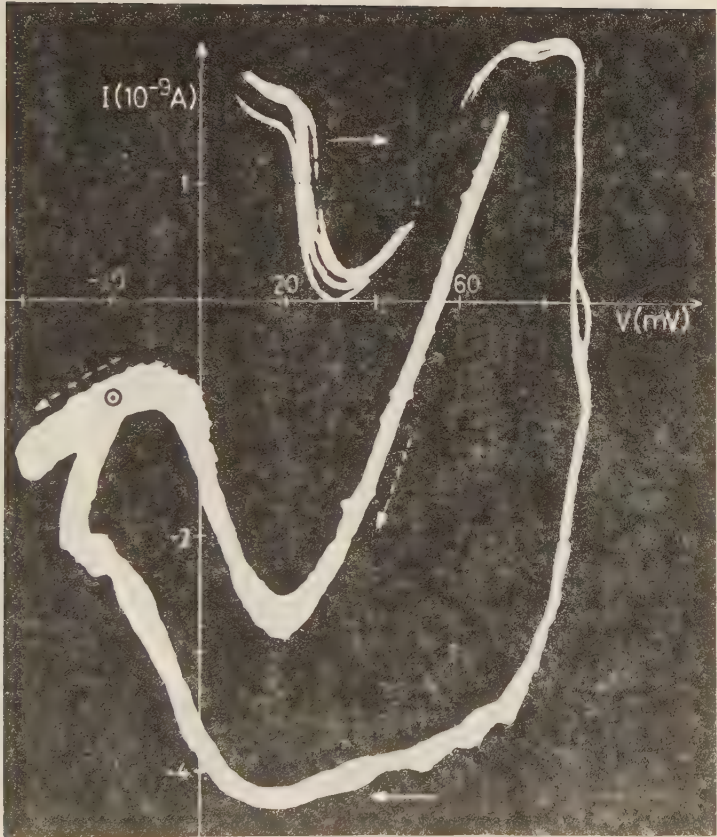


Abb. 31b) Ortskurven mehrerer Aktionsimpulse bei $80 \text{ mM/l } [\text{K}^+]_a$ mit Darstellung der stationären Kennlinie (gestrichelte Pfeile geben Abtastrichtung der stationären Kennlinie an). Arbeitspunkt von dem der Aktionsimpuls ausgelöst wurde (-20 mV) durch Kreis-Punkt auf der stationären Kennlinie gekennzeichnet.

- c) Überlagerung der Registrierung Abb. 31b durch eine weitere Ortskurve und zwar die eines Aktionsimpulses mit verzögerter 2. Repolarisationsphase (Arbeitspunkt -10 mV). Man beachte die Berührung von Ortskurve und stationärer Kennlinie im Bereich von V_{Imax} (Anlegepunkt der Ortskurve an die stationäre Kennlinie).

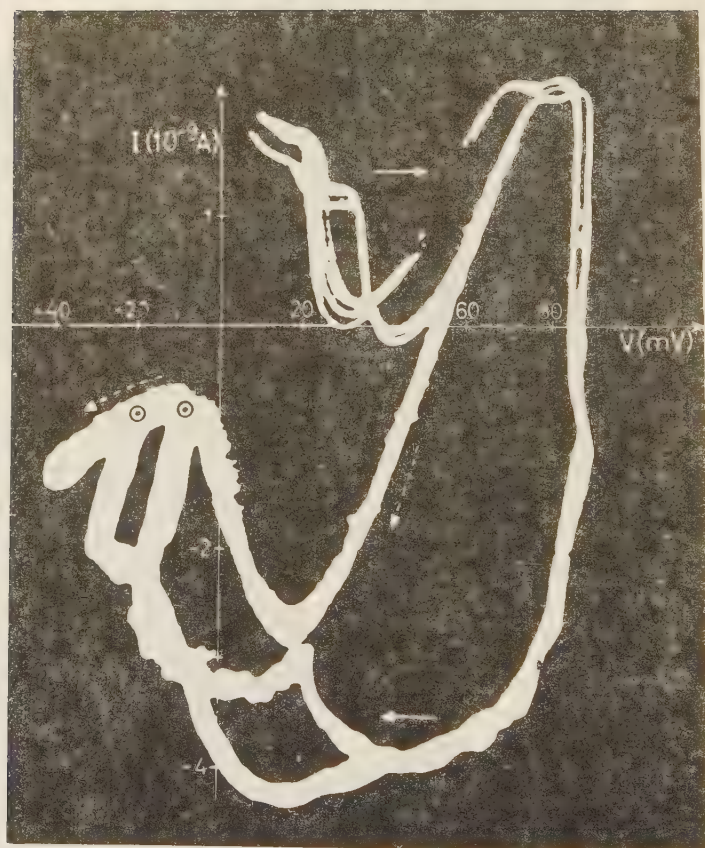


Abb. 31c)

Der qualitative Vergleich jedoch zeigt bereits, daß Kennlinie und Ortskurven ähnlich verlaufen; das gilt für die Ortskurven bei normaler (Abb. 31a) und erhöhter $[K^+]_a$ (Abb. 31b). Die Beziehungen zwischen Ortskurve und Kennlinien werden besonders während der AP mit verzögerter Repolarisationsphase deutlich, wie sie bei erhöhter $[K^+]_a$ und nur geringer Hyperpolarisation gemessen werden (Abb. 31c). Während der Abschnitt der Repolarisationsphase mit der geringsten Änderungsgeschwindigkeit der Spannung und des Stromes durchlaufen wird (vgl. die AP bei 110 mM/l $[K^+]_a$ in Abb. 29), berührt die Ortskurve die stationäre Kennlinie bei einem bestimmten zugeordneten Strom-Spannungswert im Bereich von $I_{\max}$. Dieser Spannungswert hängt vom Arbeitspunkt und von der Neigung der Arbeitsgeraden (Abb. 5) ab. Das Anlegen der Ortskurve an einen Punkt der stationären Kennlinie erfolgt bei kleiner Anstiegssteilheit der Spannung (dV/dt) deswegen, weil die kapazitive Stromkomponente ($I_C = C_S \cdot dV/dt$) dann gegen Null geht. Dadurch wird die Aufspaltung in Stromrichtung aufgehoben und vorübergehend der stationäre Zustand erreicht, bis die Wirkung des Regelkreises überwiegt und den stationären Arbeitspunkt wiederherstellt.

Je weiter der stationäre Arbeitspunkt in Hyperpolarisationsrichtung verschoben wird, umso weiter verschiebt sich der Strom-Spannungswert, der für Ortskurve und Kennlinie gemeinsam ist (Anlegepunkt), in den Bereich des negativen Widerstandes und zwar bis zu einem Spannungswert der vom Arbeitspunkt unabhängig ist. Dieser letzte Anlegepunkt auf der stationären Kennlinie darf wahrscheinlich als Maß für die Repolarisationsschwelle genommen werden. Die Verbindungslinie der Anlegepunkte auf den Ortskurven des Nervenimpulses bei erhöhter $[K^+]_a$ ergibt direkt einen Abschnitt der stationären Membrankennlinie. Wird der Arbeitspunkt weiter in Hyperpolarisationsrichtung verschoben, so ist keine Berührung der Ortskurve mit der stationären Kennlinie mehr zu beobachten, die Repolarisation verläuft ohne Verzögerung.

Dieses Experiment macht die Verknüpfung von Ortskurve des Aktionsimpulses und stationärer Kennlinie besonders deutlich und liefert gleichzeitig eine Erklärung der verzögerten Repolarisation bei erhöhter $[K^+]_a$ aufgrund der stationären Kennlinie. Wie eingangs dargestellt wird, ist die Größe des Bahnwiderstandes und damit die Neigung der Arbeitsgeraden dafür maßgebend, ob mit eingepprägtem Strom oder mit eingepprägter Spannung gemessen wird (siehe Abb. 5). Für die Auslösung der AP muß der Bahnwiderstand die Bedingung erfüllen:

$$R_B^* > \left| \frac{dV}{dI} \right| Tr$$

Es ist der Abb. 5 zu entnehmen, daß die Arbeitsgerade für das AP bei der zu erwartenden Größe von R_B ($R_B = (R_A + R_S) > 30 \text{ M}\Omega$) je nach der Lage des Arbeitspunktes auf dem hochohmigen Ast entweder 3 Schnittpunkte oder nur 1 Schnittpunkt mit der Kennlinie hat. Im letzteren Fall ist das Verhalten eines Univibrators (Monoflop) zu erwarten und wird auch tatsächlich beobachtet, d.h. die Repolarisation erfolgt spontan. Im ersten Fall sind 2 stabile Schnittpunkte der Arbeitsgeraden mit der Kennlinie vorhanden, nämlich mit den positiven Widerständen R_I und R_{II} ; der Zweipol ist nach den Erfahrungen der Elektronik jetzt als Multivibrator (Flip-Flop) geschaltet. Der Anlegepunkt der Ortskurve an die stationäre Kennlinie würde nach dieser Erklärung dem 2. stabilen Wert im Bereich von R_{II} entsprechen. Diesen Zustand behält das Präparat jedoch nur solange bei, bis die Tätigkeit des Regelkreises einsetzt und den Arbeitspunkt wiederherstellt. Dies geschieht nach einer Zeit, die von der Abweichung der Spannung des 2. stabilen Schnittpunktes vom Spannungswert der Repolarisationsschwelle, sowie von der Zeitkonstanten des Tiefpasses am Eingang des Regelverstärkers abhängt. Die Verzögerung der Repolarisation dauert daher bei konstanter Zeitkonstante des Tiefpasses umso länger, je näher der Arbeitspunkt an V_{Tr} heranrückt, umso weiter sich damit der 2. stabile Spannungswert von V_{Tr} und damit auch von der Repolarisationsschwelle entfernt.

Diese Messungen liefern nicht nur eine Erklärung für die verzögerte Repolarisation des Schnürrings bei erhöhter $[K]_a$ (Abb. 29), sondern gleichzeitig eine Möglichkeit, die Neigung der Arbeitsgeraden, d.h. der parallel zueinander verlaufenden Geraden durch Arbeitspunkt und Anlegepunkt der Ortskurve zu bestimmen und damit die Größe von R_B^* während des AP abzuschätzen. Die auf diese Weise gewonnenen Werte für R_B^* betragen im Mittel $30\text{--}40 \text{ M}\Omega$.

Die Ergebnisse der soeben dargestellten Experimente weisen darauf hin, daß alle ausgezeichneten Spannungswerte des AP, also nicht nur Depolarisationsschwelle und Amplitude, sondern auch die Repolarisationsschwelle, zu einem entsprechenden Spannungswert der stationären Kennlinie in Beziehung stehen.

4. Schwellen- und Spitzenspannungen des AP

Vergleich mit den korrespondierenden Spannungswerten der stationären Na^+ -Kennlinie.

Nach den bisher dargestellten Ergebnissen ist nicht nur der regenerative Anstieg des AP, sondern auch der regenerative Abfall in der 2. Repolarisations-

phase und demnach das regenerative Verhalten mit den für das normale AP ($t \approx 1$ msec) typischen Anstiegssteilheiten überhaupt, an die Anwesenheit von Na^+ , bzw. eines Na^+ -Substituenten gebunden. Es liegt daher nahe, statt der K^+ - die Na^+ -Kennlinie heranzuziehen, wenn die dynamischen Vorgänge während des AP mit dem stationären elektrischen Membranverhalten verglichen werden sollen.

Im 1. Teil der Ergebnisse (Abschnitt H) wurde dargestellt, daß die mit Na^+ (Li^+ , NH_4^+ , $(\text{NH}_2)_3\text{C}^+$) bzw. $\text{K}^+(\text{Rb}^+)$ als Ladungsträgern gemessenen stationären Kennlinien im Prinzip den gleichen Verlauf haben. Die Unterschiede der während der Veratridin-Depolarisation gemessenen Na^+ -Kennlinien gegenüber den K^+ -Kennlinien bestehen im wesentlichen darin, daß $V_{mG} \approx V_m$ und vor allem, daß R_{II} die Abszisse nicht bei V_K , sondern bei einem Potential schneidet, daß sehr stark von V_{Na} beeinflusst wird. In folgenden Punkten stimmen die Na^+ - mit den K^+ -Kennlinien in ihrem Verlauf überein. Die hochohmigen bzw. niederohmigen Äste, die die positiven Leitfähigkeitszustände der Membran repräsentieren, haben die gleiche Neigung und Lage im Strom-Spannungsdiagramm wie in der K^+ -Kennlinie. Der von beiden Kennlinien ableitbare Übergangsbereich besitzt die gleiche Breite und - für normale (Ringer-) Konzentrationen-auch die gleiche Lage bezogen auf die Spannungs-Koordinate. Bei einem Anstieg von $[\text{K}]_a$ verschiebt sich der Übergangsbereich systematisch bis -10 mV bei 100 mM/l $[\text{K}]_a$.

Da die Abweichungen des Kennlinienverlaufs systematischer Art sind, können sie durch einfache Korrekturen berücksichtigt werden, so daß sich die Na^+ -Kennlinie grundsätzlich auch mit den für die K^+ -Kennlinie abgeleiteten Arbeitsformeln berechnen läßt.

Am Beispiel der D_2O -Wirkung konnte in Abschnitt H 1 des 1. Teils der Ergebnisse außerdem gezeigt werden, daß sich beide Kennlinien durch physikalische und physikalisch-chemische Einwirkungen in der gleichen Weise verändern. Es wurde daraus geschlossen, daß die stationäre fallende Charakteristik als eine Membraneigenschaft von allgemeinerer Bedeutung betrachtet werden muß, die insbesondere unabhängig davon ist, ob Na^+ oder K^+ stationär durch die Membran fließt. In den folgenden Experimenten gehen wir in der Prüfung dieser Hypothese einen Schritt weiter, indem wir untersuchen, ob die durch physikalisch-chemische Einwirkungen hervorgerufenen Veränderungen an der K^+ -Kennlinie und am frei ablaufenden (Na^+ -) AP einander entsprechen.

Da die Depolarisations- und Repolarisationsschwelle sowie die Amplitude des Na^+ -AP von V_{Imin} , V_{Imax} und R_{II} bestimmt werden, müßten sie dem Betrag nach aus der während einer K^+ -Depolarisation meßbaren Kennlinie bei Kenntnis von V_{Na} annähernd richtig ableitbar sein.

Ein exakter quantitativer Vergleich 1. zwischen AP und K^+ -Kennlinie, sowie 2. zwischen K^+ - und Na^+ -Kennlinie war jedoch, wie bereits erwähnt, bisher noch nicht möglich. Ad 1: Ein Vergleich der dynamisch und stationär gemessenen Parameter wird durch die grundsätzlich verschiedenen Meßbedingungen erschwert, da diese eine getrennte Korrektur der dynamischen und stationären Meßwerte erfordern würden. Beide Korrekturen sind vorerst ungenau, da wir die Eigenschaften des Präparates, insbesondere Nebenschlußwiderstände und -Kapazitäten im Internodium nicht genau kennen. Ad 2: Eine stationäre Na^+ -Kennlinie ist im Gegensatz zur K^+ -Kennlinie nur an einer pharmakologisch veränderten Membran meßbar. Die Meßergebnisse der während einer Veratridin-Vergiftung und während einer K^+ -Depolarisation nachweisbaren stationären Membran-Kennlinien sind darum nicht exakt quantitativ miteinander vergleichbar.

Da ein quantitativer Nachweis der Zusammenhänge zwischen korrespondierenden Spannungswerten des AP und der stationären, während einer K^+ -Depolarisation gemessenen Kennlinie bisher noch nicht möglich war, wurden zunächst weitere qualitative Hinweise gesucht.

D. Stationäre K^+ -Kennlinie und AP bei normaler $[\text{Na}]_{\text{a}}$; Vergleich getrennter Registrierungen

Um die Angaben über Zusammenhänge zwischen ausgezeichneten Spannungswerten des AP und korrespondierenden Spannungswerten der stationären Kennlinie mit unabhängigen Methoden zu prüfen, haben wir untersucht, welche Veränderungen äußere Einflüsse, die die stationäre K^+ -Kennlinie verändern, am Verlauf des normalen Na^+ -AP hervorrufen. Wir haben in der Hauptsache Einflüsse verwendet, deren Wirkung auf das AP bereits durch andere (vgl. am Ende dieses Abschnittes genannte) Autoren bekannt war.

In diesen Experimenten wurden die stationären Kennlinien bei erhöhter $[\text{K}^+]_{\text{a}}$ (und erniedrigter $[\text{Na}^+]_{\text{a}}$) und die Aktionspotentiale bei normaler $[\text{Na}^+]_{\text{a}}$ (und $2,5 \text{ mM/l } [\text{K}^+]_{\text{a}}$) - beides also in Lösungen mit dem gleichen osmotischen Wert - am gleichen Präparat alternierend registriert. Anschließend wurde die Bespülung des Schnürrings mit den K^+ - bzw. Na^+ -reichen Lösungen wie-

derholt, die in Bezug auf diese Ionen die gleiche Zusammensetzung hatten, denen nunmehr jedoch in gleicher Weise andere Substanzen beigefügt waren, die insbesondere die Werte V_{Imin} , V_{Imax} und R_{Tr} verändern. Wenn stationäre Kennlinie und AP auf die gleiche Membraneigenschaft zurückgehen, müßten sich durch solche Einflüsse auf die Kennlinie auch die entsprechenden Spannungswerte des AP bzw. das regenerative Verhalten ändern.

Jede Veränderung des Außenmediums bewirkt Veränderungen der stationären und dynamischen Eigenschaften der Membran. Da die Gesetzmäßigkeiten a) des stationären Strom-Spannungsverhaltens und b) der Zusammenhänge zwischen stationären und dynamischen Eigenschaften untersucht werden sollten, wie sie für die intakte Membran gültig sind, verwendeten wir auch in diesen Experimenten zur Veränderung des Kennlinienverlaufs nur solche Einflüsse, die keine Schädigung der Membran hervorrufen. Als Kriterium dafür galt auch hier die Reversibilität der durch die äußeren Einflüsse hervorgerufenen Veränderungen. (Die Gewähr dafür, daß die Veränderungen ein Verhalten der intakten Membran wiedergeben, ist nur dann vorhanden, wenn nach Zurückschalten auf Normal-Ringerlösung am Ende des Versuches die im Versuchsbeginn registrierten Kennlinien und AP exakt reproduzierbar sind.)

Um die Hypothese, nämlich daß das normale Na^+ -AP auf eine allgemeine, also auch in der K^+ -Kennlinie zum Ausdruck kommende stationäre Membraneigenschaft zurückgeht, prüfen zu können, haben wir untersucht, ob sich speziell folgende, aus der Hypothese ableitbare Voraussagen durch das Experiment bestätigen lassen:

- 1) Einflüsse, durch die der Betrag des negativen Widerstandes größer wird, als die Summe der Realkomponenten aller Zuleitungswiderstände (Bahnwiderstände), bewirken Unerregbarkeit des Präparates, d.h. die Reiz-Antworten verlieren ihren Alles-oder-Nichts-Charakter.
- 2) Einflüsse, die V_{Imin} , V_{Imax} und die Neigung des niederohmigen Astes verändern, bewirken gleichzeitig eine Veränderung der Schwellen und der Amplitude der Antwortsignale.

1. Die Abhängigkeit des regenerativen Verhaltens vom Betrag des stationären Widerstandes im Übergangsbereich

Durch eine Zunahme der extracellulären Protonenkonzentration erhöht sich der Membranwiderstand, besonders im Übergangsbereich und im Bereich des niederohmigen Astes; gleichzeitig verschieben sich V_{Imin} und V_{Imax} in Depolarisationsrichtung, Abb. 32. Bei pH 4,8 und 80 mM/l $[K^+]_a$ wird der Widerstand im Übergangsbereich unendlich, nach einer Einwirkungszeit dieses stark sauren Milieus von einigen Minuten schließlich positiv. In diesem

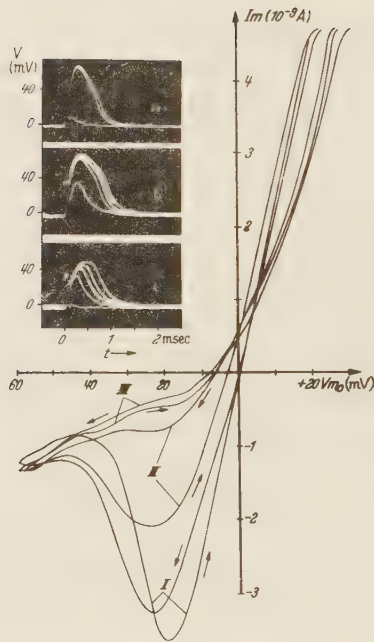


Abb. 32 Kennlinien und AP-Veränderungen durch Abnahme des extracellulären pH. Originalkurven Präparat 206/63. A. Stationäre Kennlinien bei 80 mM/l $[K^+]_a$, Diagramm normiert auf Depolarisationsspannung bei pH 6,8, $V_m = +49$ mV, Abtastgeschwindigkeit 40 mV/sec. Das Diagramm besteht aus je einer Kurve mit absteigender (von +20 mV bis -60 mV) und ansteigender Meßspannung. Die drei dargestellten Diagramme wurden mit 3 ununterbrochenen Perioden einer eingepprägten sinusförmigen Wechselspannung registriert. Beginn der Registrierung bei Diagramm I in absteigender Richtung. Die Pfeile geben die Abtastrichtung an. Bei Beendigung der ersten Registrierperiode Änderung des extracellulären pH-Wertes. Diagramm I pH 6,8, II/III pH 4,6. II Zunahme des Widerstandes im Bereich des niederohmigen Astes, Zunahme von R_{Tr} . III R_{Tr} nimmt positive Werte an. Gleichzeitig vermindert sich die Depolarisationsspannung und der Übergangsbereich verkleinert sich. Teilabbildung links oben: Aktionspotentiale und maximale EP (= SP) des gleichen Präparates in Normal-Ringerlösung. a) pH 6,8; b) pH 4,6 nach 2-7 sec, starkes Ansteigen der Depolarisationsschwelle und der unter-schweligen Antwort; c) pH 4,6 nach 9-13 sec "Reaktionspotential" mit variabler Amplitude. Maximalamplitude kleiner als Amplitude des normalen AP (nach MÜLLER-MOHNSEN und BALK 1964).

Zustand ist jeder Punkt der Kennlinie des depolarisierten Schnürrings durch seinen Stromwert eindeutig bestimmt, so daß die mit eingepprägtem Strom und eingepprägter Spannung gemessenen stationären Kennlinien jetzt identisch sind. Nach weiter verlängerter Einwirkungszeit bzw. nach Absinken des extracellulären pH auf 4,65 nimmt der Widerstand im Übergangsbereich weiter ab, bis der Übergangsst schließlich die Neigung des hochohmigen Astes erreicht. Gleichzeitig verschiebt sich V_{Imax} bis V_m , so daß eine einfache Gleichrichtercharakteristik mit dem Knickpunkt in der Abszisse entsteht.

Zur Klärung der Frage, ob ein auf den gleichen Übergangsbereich wie die K' -Kennlinie zurückgehender stationärer negativer Widerstand auch für das regenerative Verhalten während des normalen AP verantwortlich ist, wurde jeweils unmittelbar nach der Registrierung der Kennlinie die Testlösung von 80 mM/l $[K']_a$ auf Normalringer des gleichen pH-Wertes umgeschaltet und das Reiz-Antwortverhalten ausgehend vom Ruhepotential registriert.

Bei nur wenig erniedrigten pH-Werten, oder sehr kurzer Einwirkungszeit, solange also der Widerstand im Übergangsbereich noch negativ ist, zeigt die Antwort auf einen rechteckförmigen Strom-Impuls Alles-oder-Nichts-Charakter, d.h. zwischen dem maximalen, die Schwellenspannung erreichenden EP liegt ein "leerer Bereich" in den Registrierungen. Gleichzeitig nimmt - entsprechend der Verschiebung von V_{Imin} der K' -Kennlinie in Depolarisationsrichtung - die Amplitude der Schwellenspannung zu. Außerdem verschiebt sich ebenso wie V_{Imax} die Spannung des Repolarisationsknicks nach höheren Depolarisationsspannungen und die Dauer der "Dachschräge" nimmt zu. Dauer und Amplitude der überschwelligen Erregung sind von der Höhe des auslösenden Reizes unabhängig (Digitalverstärkung), solange der Widerstand im Übergangsbereich deutlich negativ ist.

Wird die pH-Wirkung derart dosiert, daß der Betrag von R_{Tr} den Wert unendlich erreicht, oder sogar überschreitet und positiv wird, so sind durch verschieden starke Reize Reizantworten beliebiger Dauer und Amplitude (von $t=0$ bzw. $V=0$ bis zu einer bestimmten Maximalantwort) auslösbar. Die Membran verliert ihre regenerativen Eigenschaften also auch im dynamischen Betrieb, d.h. ihre Reizantwort ist nicht mehr durch einen selbsttätigen Spannungsanstieg und -abfall gekennzeichnet, sie hat ihren Alles-oder-Nichts-Charakter verloren. Da sich diese Antworten formal als Amplituden- und Zeitverzerrung des Reizimpulses auffassen lassen, bezeichnen wir sie als "Reaktionspoten-

tiale" (RP), siehe auch C 2 dieses Abschnittes. Die erste, aus unserer Hypothese abgeleitete Voraussage ist damit experimentell bestätigt.

2. Depolarisations- und Repolarisationsschwelle sowie Amplitude des AP bei Veränderung von V_{Imin} , V_{Imax} der stationären K^+ -Kennlinie

Jede physikalische, chemische bzw. physikalisch-chemische Veränderung in der Umgebung des Schnürrings führt zu Veränderungen der stationären elektrischen Eigenschaften. Da gewöhnlich mehrere der Parameter (R_I , R_{II} , R_{Tr} , V_{Tr} , ΔV_{Tr}) gleichzeitig in verschiedenem Maße verändert werden, entstehen Kennlinienveränderungen, die für jede äußere Einwirkung ganz charakteristisch sind. Je nachdem, welcher der Parameter am stärksten betroffen wird, und welche Richtung die Veränderung nimmt, lassen sich die äußeren Einwirkungen nach unseren Ergebnissen in wenige, z.B. in zwei Gruppen klassifizieren.

Es zeigte sich nämlich, 1. daß alle äußeren Einwirkungen - mindestens in einem Kennlinienbereich - den Membranwiderstand verändern und 2. daß sich V_{Tr} mit einer Widerstandszunahme eines oder mehrerer Kennlinienäste regelmäßig in Depolarisations-Richtung, mit einer Widerstandsabnahme ebenso regelmäßig in Polarisationsrichtung verschiebt. Da die Kennlinie für eine vorgegebene Membran-Spannung im wesentlichen durch R_I , R_{II} , R_{Tr} und ΔV_{Tr} (Gleichung 15) beschrieben ist, können wir zunächst von speziellen Varianten in der Wirksamkeit absehen und sämtliche äußere Einwirkungen in 2 große Gruppen, nämlich in widerstandssteigernde und widerstandsvermindernde unterteilen.

Hyperosmotische und saure Lösungen, z.B. erhöhen den stationären Membranwiderstand im gesamten Kennlinienbereich, Ca^{++} -reiche Lösungen lediglich im Bereich R_{Tr} . Unter dem Einfluß dieser Lösungen verschieben sich V_{Imin} und V_{Imax} regelmäßig in Depolarisationsrichtung (MÜLLER-MOHN-SEN und BALK 1964, 1965). Hyperosmotische alkalische und Ca^{++} -arme Lösungen rufen eine Verschiebung von V_{Imin} und V_{Imax} in Polarisationsrichtung hervor. Die ersteren vermindern den Membranwiderstand in allen Kennlinienabschnitten, Ca^{++} -arme Lösungen nur im Bereich von R_{Tr} . Neuere Untersuchungen des Ca^{++} -Einflusses auf die Membran des Schnürrings und Nachberechnung der Kurven mit Gleichung 17 haben ergeben, daß sich die Veränderungen des Betrages von R_{Tr} bei Veränderungen von $[Ca^{++}]_a$ hauptsächlich

durch die Verschiebung des Übergangsbereiches erklären (ALBRECHT-BÜHLER 1967).

Die Lage der Depolarisationsschwelle wird in unserer Hypothese auf V_{Imin} und die der Repolarisationsschwelle auf V_{Imax} der - z.B. auch bei erhöhter $[K^+]_a$ messbaren - stationären Membrankennlinie bezogen. Wir können nun die Richtigkeit der 2. Voraussage experimentell prüfen, indem wir untersuchen, ob die obengenannten äußeren Einwirkungen, die die Lage der Extrema in den stationären Kennlinien verändern, gleichzeitig eine entsprechende Verschiebung beider Schwellen des AP hervorrufen.

Tatsächlich ist die zu erwartende Zunahme der Spannung beider AP-Schwellen während der Einwirkung erhöhter $[Ca^{2+}]_a$, Osmolarität oder Protonenkonzentration, ebenso wie deren Abnahme bei verringerter $[Ca^{2+}]_a$, Osmolarität oder Protonenkonzentration nach Umschalten von K^+ -reicher Lösung auf die entsprechend veränderte Ringerlösung mit normaler Na^+ -Konzentration im Experiment regelmäßig nachweisbar (MÜLLER-MOHNSEN und BALK 1964, 1965 a und b). Wie eingangs erwähnt, wurden die AP-Veränderungen bereits früher von anderen Autoren registriert (v.a. STÄMPFLI 1956, FLICK 1965, FRANKENHAEUSER 1962, MEVES 1964, HEENE 1962, andere Autoren bei SHANES 1958).

Mit einer Zunahme der positiven Membranwiderstände ist regelmäßig eine Verschiebung von V_{Imin} und V_{Imax} der stationären Kennlinie in Depolarisationsrichtung und infolgedessen ein Anstieg der AP-Schwellenspannungen verknüpft, während eine Widerstandsabnahme die umgekehrten Veränderungen hervorruft. Wir bezeichnen daher die widerstandssteigernden Lösungen nach SHANES (1958) als Stabilisatoren und die widerstandsvermindernden als Labilisatoren. (Von den Stabilisatoren trennen wir begrifflich die Lokalanaesthetica (z.B. Cocain und ähnlich wirkende, sowie Veratridin) ab, da diese keine Zunahme des stationären Membranwiderstandes sowie überhaupt keine wesentlichen Änderungen der stationären Membrankennlinie $G(V)$ hervorrufen, sondern speziell den schnellen regenerativen Na^+ -Einwärtsstrom blockieren und damit die Funktion $G(V, t)$ in der die Na^+ - K^+ -Selektivität der Membran zum Ausdruck kommt, beeinflussen.) Die Wirkung eines "Stabilisators" soll an der Wirkung des D_2O dargestellt werden, dessen Einfluß auf die stationäre Kennlinie in anderem Zusammenhang untersucht wurde (MÜLLER-MOHNSEN und BALK 1967).

Wird das Lösungsmittel, nämlich das leichte Wasser, im Außenmedium des Schnürrings durch schweres Wasser ersetzt, so verändert sich der Verlauf der stationären Strom-Spannungskennlinie, auch wenn die Konzentration der gelösten Stoffe gleich bleibt (Abb. 33). In D_2O -Normalringer ist der Widerstand 1,25 bis 1,3mal höher als in H_2O -Ringer (Abb. 33a). Besonders deutlich ist der Einfluß auf den Widerstand im Übergangsbereich der stationären Kennlinie bei 40 mM/l extracellulärer K^+ -Konzentration (Abb. 33b). R_{Tr} hat bei gleicher K^+ -Konzentration in der D_2O -Lösung den 3-fachen Betrag, bezogen auf R_{Tr} in H_2O -Lösung. Der Maximalstrom beträgt bei D_2O nur $\frac{1}{3}$ des Wertes bei H_2O . Ebenso wie in allen übrigen obengenannten Kennlinien mit erhöhten Widerständen verschiebt sich V_{Imin} und V_{Imax} auch in der D_2O -Kennlinie in Depolarisationsrichtung und zwar um ≈ 5 mV. Die Kennlinie wird durch D_2O -Lösung in ähnlicher Weise verändert wie durch den Anstieg der extracellulären Ca^{++} -Konzentration auf das 4-fache des Normalwertes bzw. durch die Abnahme des extracellulären pH-Wertes auf 5,0.

Die D_2O -Lösung gehört nach diesen Ergebnissen zur Gruppe der "Stabilisatoren". Wenn V_{Imin} , V_{Imax} und der Betrag von R_{II} der stationären K^+ -Kennlinie tatsächlich die Lage der Schwellen und Amplitude des Na^+ -AP bestimmen, müssten D_2O -Lösungen die gleiche Wirkung auf den Ablauf des AP haben, wie die übrigen bisher genannten "stabilisierenden" Lösungen. In den AP-Registrierungen des gleichen Präparates (Abb. 34) ist der Anstieg der Depolarisationsschwelle und der Amplitude des AP in D_2O -Ringer deutlich erkennbar. Der Anstieg der Repolarisationsschwelle ist der Abbildung nicht unmittelbar zu entnehmen, läßt sich aber durch Differenzierung der Kurven bestätigen.

Durch die experimentelle Bestätigung auch der 2. Voraussage erfährt die am Eingang dieses Kapitels genannte Hypothese eine weitere Stütze.

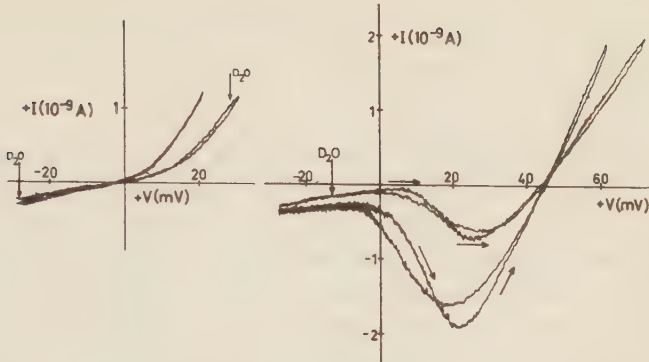


Abb. 33a und b Vergleich des Einflusses von H_2O und D_2O auf die stationäre Kennlinie (Originalregistrierung Schnürring 360/66) Abtastrichtung ist durch Pfeile angegeben.
 a) Ringerlösung. Anstieg des Membranwiderstandes durch Austausch von H_2O gegen D_2O als Lösungsmittel (besonders im Bereich R_{II} erkennbar).
 b) 40 mM/l KCl-Ringerlösung. Zunahme des Betrages von R_{II} und R_{Tr} in D_2O -Lösung. Verschiebung von V_{Imin} und V_{Imax} in Depolarisationsrichtung.

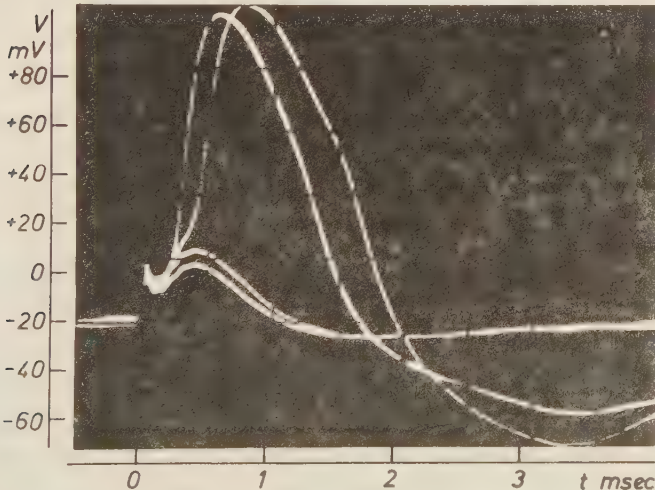


Abb. 34 Isotopieeffekt des D_2O auf den Verlauf des AP (Originalregistrierung, Schnürring 360/66, gleiches Präparat wie Abb. 33). Depolarisationsschwelle und Amplitude in D_2O -Ringerlösung erhöht.

IV. Diskussion der Ergebnisse

Wiederholung von Fragestellung und Expose

In den vorliegenden Untersuchungen wird die Membranfunktion der markhaltigen Nervenfasern konsequent als elektrophysikalisches Geschehen analysiert. Das Ziel ist es, festzustellen, welche gesetzmässigen Zusammenhänge zwischen den Meßgrößen innerhalb des komplexen Geschehens für die Funktion als solche wesentlich sind und welche lediglich den speziellen Funktionsablauf bestimmen, um durch die Ergebnisse schließlich das weitere experimentelle Vorgehen bei der Suche nach dem noch vollständig unbekannten molekularen Leitungsmechanismus erregbarer Membranen begründen zu können.

Unter biologischer Funktion verstehen wir die im Hinblick auf das Leben zweckgerichtete Leistung eines Organs, die - lokal begrenzt - einen jener im thermodynamischen Sinn unwahrscheinlichen Zustände herbeiführt, die in ihrer Gesamtheit das Leben eines Organismus kennzeichnen. Die Funktion der Nervenfasern besteht darin, Nervensignale ohne Informationsverlust weiterzuleiten. Für die Weiterleitung ist die Information codiert als: elektrischer Normimpuls und Pause. In der Faser erleiden die Aktionsimpulse hohe Leitungsverluste. Trotzdem beobachten wir eine dämpfungsfreie Informationsleitung. Grund dafür ist, daß die Aktionsimpulse während der Erregungsleitung an der erregbaren Membran der RANVIERSchen Schnürringe in regelmäßigen Abständen *digital* nachverstärkt und entzerrt werden.

Gegenwärtig besitzen wir noch keine experimentellen Methoden, um die völlig unbekannten stofflichen Vorgänge an der erregbaren Membran, die dieser Verstärkerfunktion zugrundeliegen (Leitungsmechanismen in Leitern 2. Ordnung mit hohem Ordnungszustand) ohne Präparatschädigung direkt zu untersuchen. Die elektrischen Erscheinungen lassen sich dagegen verhältnismäßig genau und schonend messen, so daß wir den Erregungsablauf aufgrund der für die Meßgrößen Strom und Spannung gültigen Gesetzmäßigkeiten analysieren und geschlossen als Folge einer elektrischen Struktur darstellen können. Den stofflichen Leitungsmechanismus können wir dabei zunächst außer Acht lassen, da die Gesetzmäßigkeiten der Elektrizitätslehre für alle Ströme und Spannungen gelten, gleichgültig ob es sich nun um Ionen- oder Elektronenströme, bzw. Leiter 1. und 2. Ordnung handelt. Auf diese Weise können wir

den physikalischen Vorgang zergliedern in die einfachsten Zusammenhänge zwischen Strom und Spannung, die ihm zugrundeliegen. Eine solche Analyse, wie eine elektrische Messung überhaupt, setzt eine modellmäßige Reduktion des Meßobjekts zu einem elektrischen Funktionsschema (auch Ersatzschaltbild) voraus und führt zur Feststellung der notwendigen elektrischen Eigenschaften, die das Meßobjekt erfüllen muß, um die beobachtete Funktion zustandebringen zu können.

Gestützt auf die bisher bekannten Ergebnisse elektrophysiologischer und morphologischer Untersuchungen, betrachten wir die erregbare Membran als "konzentriertes elektrisches Bauelement", nämlich als Zweipol. Das erlaubt uns, zur Analyse ihrer Funktion bewährte Untersuchungsverfahren und Betrachtungsweisen aus der Elektrophysik anzuwenden. Die erregbare Membran stellt sich in dem auf ein Ersatzschaltbild reduzierten Meßobjekt als elektrischer Zweipol dar; sie ist demnach als aktiver verstärkender Zweipol zu bezeichnen. Die Anwendung der Zweipol- und Verstärkertheorie ergibt, daß zwei notwendige Bedingungen für diese Funktion erforderlich sind:

1. Die Existenz einer oder mehrerer elektrischer Energiequellen, die eine Verstärkung energetisch ermöglichen und 2. die Existenz eines Steuerelementes, d.h. bestimmter Zweipoleigenschaften der erregbaren Membran, die den Energiefluß aus den Energiequellen derart steuern, daß eine digitale Verstärkung möglich ist.

Die bisher genaueste Beschreibung des Erregungsvorganges aufgrund elektrischer Meßergebnisse liefert der mathematische Formalismus der "Ionentheorie der Erregung" (HODGKIN und HUXLEY 1952; HH-Formalismus). Eine der Voraussetzungen dieses Formalismus gründet sich auf den experimentell geführten Nachweis, daß die elektrischen Energiequellen an der Membran als Ionen-Diffusionsbatterien zu bezeichnen sind. Sie können auf gut bekannte stationäre Zusammenhänge zurückgeführt und somit als physikalisch erklärt betrachtet werden. Die Steuerung der Ionenfluxe, auf der die Verstärkerfunktion beruht, wird im HH-Formalismus dagegen lediglich empirisch beschrieben durch eine Gleichung von der Form einer reaktionskinetischen Gleichung. Die Ionentheorie schlägt damit als Hypothese einen chemischen Mechanismus vor. Dieser wird in dem Bild der Aktivierung und Inaktivierung (Bildungs- und Zerfallsterm) von sog. Carrier-Molekülen veranschaulicht. Das Resultat ist eine Differentialgleichung, die den Erregungs-Vorgang zwar sehr genau beschreibt, jedoch - da sie explizit zeitabhängig ist - schwer lösbar und unübersichtlich

ist. Trotzdem wäre diese Schreibweise gerechtfertigt, wenn experimentelle Ergebnisse die Existenz eines chemischen Carrier-Mechanismus zwingend nahelegen würden. In den 20 Jahren des Bestehens der Ionentheorie konnte der experimentelle Nachweis, daß derartige Carrier-Systeme tatsächlich existieren, indessen nicht erbracht werden.

Wir versuchen daher, das der Membranfunktion zugrundeliegende, in komplizierter Weise in der Zeit ablaufende Strom-Spannungsverhalten, das in der Ionentheorie durch explizit zeitabhängige Gleichungen dargestellt wird, auf eine zeitunabhängige, durch die Membran bewirkte Bindung zwischen Strom und Spannung zurückzuführen.

Das Vorgehen gründet sich auf den Beweis, daß der für die Steuerung der Ionenfluxe verantwortliche Zweipolparameter der Membran in einer Strom-Spannungskennlinie mit reellem negativem Widerstand zu suchen ist, der von 2 Ästen positiven Widerstandes begrenzt wird. Eine solche fallende Charakteristik ist eine notwendige Bedingung für die Verstärkerfunktion der erregbaren Membran der Nervenfaser überhaupt. Außerdem läßt sich beweisen, daß ein leistungsverstärkender Zweipol, an dem man eine Spannungsverstärkung beobachtet, wie beim Schnürring, nur durch einen regenerativen Spannungsumschlag (Alles-oder-Nichts-Antwort) verstärken kann. An einer fallenden Charakteristik wäre demnach nicht nur die Fähigkeit eines Zweipols zu verstärken, sondern gleichzeitig auch der spezielle Verstärkertyp erkennbar. Ihr experimenteller Nachweis zugleich eine Erklärung für die Funktion des Schnürrings.

Da die erregbare Membran - abgesehen von der Refraktärzeit - jederzeit funktionsbereit ist, erwarten wir, daß nicht nur die Energiequellen, sondern auch die Zweipoleigenschaften der Membran ständig vorhanden sind, die fallende Charakteristik also eine permanente, d.h. stationäre Membraneigenschaft ist. Sofern sich herausstellen würde, daß die fallende Charakteristik am Schnürring unabhängig vom zeitlichen Ablauf des Erregungsvorganges stationär meßbar ist, wäre damit die Möglichkeit einer Erklärung der Membranfunktion durch eine zeitunabhängige Membraneigenschaft grundsätzlich gegeben. Eine Strom-Spannungscharakteristik mit stationär meßbarem negativem Widerstand wäre nicht nur der direkte Nachweis, daß ein reeller negativer Widerstand in der Kennlinie der Membran vorhanden ist, sondern würde gleichzeitig die Entwicklung einer übersichtlichen Beschreibung des Erre-

gungsvorganges erlauben und die Richtung für die Suche nach dem molekularen Membranmechanismus angeben. Eine notwendige Stütze dieses Vorgehens wäre allerdings der experimentelle Nachweis eines gesetzmäßigen Zusammenhanges zwischen stationärer Kennlinie und dem dynamisch ablaufenden Verstärkungsvorgang des Schnürrings.

Folgende Aufgaben waren demnach durch das Experiment zu lösen:

A Die Messung des stationären Strom-Spannungsverhaltens einzelner Schnürringe und B Vergleich zwischen stationärem Strom-Spannungsverhalten und dynamisch ablaufender Funktion. C Unter normalen und abweichenden Bedingungen an der Membran.

A. Die stationäre Strom-Spannungskennlinie des Schnürrings

1. Die stationäre fallende Charakteristik und deren Nachweisbarkeit

Alle bisher bekannten Ergebnisse elektrophysiologischer und morphologischer Untersuchungen sprechen dafür, daß der Schnürring als aktiver verstärkender Zweipol betrachtet werden darf. Daher überrascht es nicht, daß am Schnürring durch direkte Messung eine stationäre fallende Charakteristik nachgewiesen wurde (BALK und MÜLLER-MOHNSEN 1962). Die erregbare Membran des Schnürrings ist experimentell nur über ein komplexes Präparat zugänglich. So ist indessen die Tatsache, daß ein stationärer negativer Widerstand, selbst wenn er vorhanden ist, auch einem direkten meßtechnischen Nachweis zugänglich ist, keineswegs trivial. Präparatbedingte (z.B. in Serie zum Zweipol geschaltete kapazitive) Eigenschaften sind durchaus in der Lage, die stationäre fallende Charakteristik des Bauelementes "erregbare Membran" zu maskieren.

An einem mit Normal-Ringerlösung gespülten, auf Ruhepotential liegenden Schnürring ist aus energetischen Gründen stationär keine fallende Charakteristik, sondern nur eine Gleichrichtercharakteristik meßbar. Der Nachweis der fallenden Charakteristik setzt voraus, daß eine Messung im 4. Quadranten des mit dem Nullpunkt im Ruhepotential liegenden Strom-Spannungsdiagramms energetisch möglich ist; dazu müssen folgende Bedingungen experimentell erfüllt werden:

1) Die Meßspannung tastet den Spannungsbereich zwischen Ruhepotential und +22 mV ab, da hier der negative Widerstand liegt.

2) Im extracellulären Medium müssen genügend Kationen als Ladungsträger vorhanden sein, da der negative Widerstand hauptsächlich im 4. Quadranten und daher bei Einwärtsströmen ($-I$) liegt.

3) Die stationäre Leitfähigkeit der Membran für diese Ladungsträger muß ausreichend hoch sein. Als Kriterium dafür gilt, daß der Konzentrationsgradient dieser Kationen das Membranpotential maßgebend beeinflusst. Damit ist Bedingung 3 notwendig gekoppelt mit Bedingung 4.

4) Das Membranpotential muß bei einem Wert $V > 22$ mV liegen, so daß die den Übergangsbereich abtastende Meßspannung als treibende Kraft ($V - V_m$) für einwärts gerichtete Ströme $[-I = g_m (V - V_m)]$ wirken kann.

Die wichtigsten der unter Normalbedingungen im extracellulären Medium vorkommenden Ladungsträger sind Na^+ und K^+ . Obwohl die Leitfähigkeiten der Membran für beide Ionenarten in der gleichen Größenordnung liegen, unterscheiden sie sich prinzipiell durch die verschiedene Abhängigkeit ihres Betrages von der Dauer bzw. der Anstiegssteilheit der Meßspannung dV/dt . Für K^+ besitzt die Membran im gesamten Kennlinienbereich - auch im Spannungsgebiet, in dem sich die phasische Aktivität abspielt, also im Übergangsbereich und im angrenzenden Abschnitt des Bereiches II - nach einer bestimmten Zeit und unabhängig von der dV/dt der Meßspannung eine hohe stationäre Leitfähigkeit. Dagegen erhöht sich die Na^+ -Leitfähigkeit bei einer Spannungsänderung ausgehend vom Bereich I zum Bereich Tr oder II nur kurzzeitig (100 μ sec) um sofort wieder auf einen Ruhewert abzufallen, der wesentlich kleiner ist als die K^+ -Leitfähigkeit. Während des phasischen Anstiegs - der allerdings auch nur dann eintritt, wenn die Anstiegssteilheit der Meßspannung $dV/dt > 3000$ mV/sec - überschreitet die Na^+ -Leitfähigkeit die K^+ -Leitfähigkeit. (Siehe HODGKIN und HUXLEY 1952 u.a.) Wird dieselbe Spannungsänderung durch eine Reizung mit eingepprägtem Strom ausreichend steilen Anstiegs hervorgerufen, so erfolgt eine regenerative Spannungsänderung an der Membran auf einen Wert nahe V_{Na} mit der für das AP typischen großen Anstiegssteilheit dV/dt . Die Membran wirkt hier als monostabiles Element.

Da die stationäre Leitfähigkeit für K^+ (insbesondere bei erhöhter $[K^+]_a$) die aller übrigen Ionen überwiegt, bestimmt der K^+ -Konzentrationsgradient das Membranpotential unter Ruhebedingungen. Nach einer Verschiebung der Membranspannung mit einer Anstiegssteilheit von mindestens 3000 mV/sec in den Bereich Tr, also nach einer überschwelligen Reizung, überwiegt für die Dauer von ca. 100 μ sec die Leitfähigkeit der Membran für Na^+ die aller übrigen Ionen - auch die K^+ -Leitfähigkeit - und bestimmt daher das Aktionspotential.

Na^+ beeinflusst das Ruhepotential nur wenig (SCHMIDT 1966), K^+ ist dagegen als Ladungsträger für eine phasische Aktivität mit der für das AP typischen Geschwindigkeit des Anstiegs ungeeignet. Wird Na^+ in der extracellulären Flüssigkeit vollständig gegen K^+ ausgetauscht, zeigt die augenblicklich auftretende Änderung des Membranpotentials in Depolarisationsrichtung regenerativen Charakter, verläuft jedoch wesentlich langsamer als der Anstieg des normalen AP. Wird das Ruhepotential durch eine äussere Stromquelle künstlich wiederhergestellt, so sind durch Reizung regenerative Antworten auslösbar, die gegenüber dem AP jedoch stark verlängert sind (P. MUELLER 1958). Diese Antwortimpulse beruhen auf einer Bistabilität der Spannung an

der Membran. Erst bei einer Hyperpolarisation der Membran mit einem Strom in der Größenordnung von $I_{\max}$ der stationären Kennlinie werden diese Antworten monostabil. Wird die Menge der stationär durch die Membran fließenden Ladungsträger im Außenmedium erhöht und so der Nachweis der stationären fallenden Charakteristik ermöglicht, bleiben die Steuereigenschaften der Membran im Prinzip unverändert. Es ändern sich, sofern ausschließlich stationär fließende Ionen, aber keine Na^+ bzw. Na^+ -Substituenten vorhanden sind, lediglich die Zeiten der Spannungsänderungen um den Faktor 10^4 .

An einem mit Normal-Ringerlösung gespülten, auf Ruhepotential liegenden Schnürring läßt sich die stationäre fallende Charakteristik nicht nachweisen, da die Konzentration des stationär beweglichen Ions (K^+) zu gering und daher die Bedingungen 3 und 4 ($V_m > +22 \text{ mV}$) nicht erfüllt sind. Alle Nachweisbedingungen sind jedoch sofort erfüllt, wenn durch Erhöhung der extracellulären Konzentration von K^+ oder einem K^+ -Substituenten (z.B. Rb^+) eine Depolarisation um mehr als 22 mV herbeigeführt wird.

Für einen Nachweis der fallenden Charakteristik mit Na^+ als Ladungsträger ist dagegen bei einererspülung mit Normal-Ringerlösung lediglich die Bedingung 2: hohe äussere Ladungsträger-Konzentration gegeben. Durch eine Veratridin-Vergiftung wird die stationäre Membranleitfähigkeit für Na^+ stark erhöht. Da V_{Na} nunmehr die stationäre Membranspannung beeinflussen kann, wird neben der Bedingung 3 gleichzeitig auch die Bedingung 4 für den Nachweis der stationären fallenden Charakteristik erfüllt. Während der Veratridin-Vergiftung erlischt zwar die Fähigkeit der Membran phasische Leitfähigkeitsänderungen für Na^+ zu erzeugen, so daß keine AP mehr auslösbar sind, doch läßt sich in diesem Zustand die stationäre fallende Charakteristik auch mit Na^+ , bzw. einem Na^+ -Substituenten (Li^+ , NH_4^+ , $\text{NHC}(\text{NH}_2)_2^+$ etc.) nachweisen. ADAMS, STÄMPFLI und WEISS (1966) haben gezeigt, daß Skorpiongift eine ähnliche Wirkung wie Veratridin hervorbringen kann.

Sind im Außenmedium nur Na^+ oder Na^+ -Substituenten vorhanden, beobachten wir Anstiegssteilheiten der an der Membran auftretenden regenerativen Spannungsänderungen von $dV/dt \approx 10^3 \text{ V/sec}$. Sind lediglich K^+ oder K^+ -Substituenten anwesend, verringern sich diese Anstiegssteilheiten um den Faktor 10^4 . Wegen der Verschiedenheit ihrer Eigenschaften als Ladungsträger an der Membran bezeichnen wir daher die Ionen mit K^+ -Beweglichkeit als stationär und die mit Na^+ -Beweglichkeit als phasisch bewegliche Ionen. Die Eigenschaft phasisch beweglich kann in die Eigenschaft stationär beweglich übergeführt werden (nicht umgekehrt), jedoch ist dann die Fähigkeit der Membran zur Bildung von AP vollständig erloschen. Stationäre und phasische Beweglichkeit sind also streng alternativ auftretende Eigenschaften. Sofern überhaupt AP auslösbar sind, ist deren Dauer mit $t \approx 1 \text{ msec}$ annähernd konstant und unabhängig vom Ladungsträger. Erlangen die normalerweise phasisch beweglichen Ionen durch eine Veratridinvergiftung stationäre Beweglichkeit, so zeigt die Membran nunmehr für alle Ionen mit K^+ - und Na^+ -Beweglichkeit das gleiche zeitliche Verhalten. Es sind vom Ruhepotential ausgehend keine AP, sondern nur bistabile Spannungsänderungen mit einer Anstiegssteilheit von $1 \cdot 10^{-1} \text{ V/sec}$ möglich.

Wenn die Bedingungen 1-4 erfüllt sind, läßt sich die stationäre fallende Charakteristik des Schnürrings darstellen und zwar mit den Ladungsträgern, die normalerweise entweder das Ruhepotential (K^+) oder das Aktionspotential (Na^+) beeinflussen und deshalb am Erregungsprozess teilnehmen können, aber auch mit einer Reihe anderer einwertiger Kationen, die als K^+ - bzw. Na^+ -Substituenten

geeignet sind. (Dies sind insbesondere die Alkali-Ionen, außerdem NH_4^+ , $[(\text{NH}_2)_3\text{C}]$; andere wurden bisher nicht untersucht.

Für die Lage der Spannungsbereiche I, II und Tr und damit für die Form der stationären fallenden Charakteristik ist es - abgesehen von einer geringen systematischen Änderung mit $[\text{K}^+]_a$ - gleichgültig, ob K^+ oder Na^+ als Ladungsträger dient. Unterschiede in dem Einfluß dieser Ionen auf die Membran sind lediglich an der Einstellungsgeschwindigkeit des stationären elektrischen Zustandes erkennbar; insbesondere durch Veratridin wird die Einstellungsgeschwindigkeit stark verringert.

Da K^+ - wenn auch in geringerer Konzentration - bereits in der normalen extracellulären Flüssigkeit vertreten ist und vor allem da sich die Bedingungen für den Nachweis der stationären fallenden Charakteristik allein durch eine K^+ -Depolarisation ohne zusätzliche pharmakologische Veränderungen der Membran herstellen lassen, wurde die stationäre Membrankennlinie anhand der Meßergebnisse bei erhöhter $[\text{K}^+]_a$ eingehend analysiert und durch empirische Gleichungen beschrieben. Wenn die Bedingungen für den Nachweis des negativen Widerstandes gegeben sind, stellt sich das Strom-Spannungsverhalten folgendermaßen dar.

Im hochohmigen und niederohmigen Ast (R_I und R_{II}) beschreibt die stationäre Kennlinie des RANVIER'schen Schnürrings Grenzzustände der erregbaren Membran, die nur wenig vom Membranpotential und den zur Verfügung gestellten Ladungsträgern beeinflusst werden. Die Membran kann demnach 2 Zustände verschiedener ohm'scher Leitfähigkeiten ($dI/dV > 0$) annehmen. Jeder dieser Zustände liegt in einem bestimmten Spannungsintervall vor, dessen Grenzen ziemlich scharf definiert sind. In einem zwischen diesen Spannungsintervallen mit positiver Leitfähigkeit gelegenen Übergangsbereich (Bereich Tr) von 22 mV Breite gehen die beiden positiven Leitfähigkeiten stetig ineinander über. An der Grenze zwischen Tr und dem Bereich niedriger Leitfähigkeit (Bereich I), die nahe dem Nullpunkt des Koordinatensystems, dem Ruhepotential und $I=0$ liegt, wird unter den Bedingungen 1-4 (S. 141) ein kleinerer Betrag des Stromes gemessen, als an der Grenze von Tr zum Bereich hoher Leitfähigkeit. Die Kurve durchläuft an den Grenzen des Übergangsbereichs Extremwerte. So wird im Übergangsbereich bei zunehmender Spannung ein durch eines dieser Extrema ($I_{\min}$) bestimmter Stromwert in einen kleineren Stromwert übergeführt ($I_{\max}$; beachte Vorzeichen des Stromes.), d.h. wir

messen einen negativ-differentiellen Widerstand; dieser liegt hauptsächlich im 4. Quadranten des Diagramms.

Weil die Lage der Spannungsbereiche I, II und Tr, sowie die in I und II gemessenen Widerstände unabhängig vom speziellen Ladungsträger und dessen Konzentration annähernd feste Werte sind, unterscheiden sich die Kennlinien für verschiedene Ionen, die gleichzeitig anwesend sind, aber verschiedene Konzentrationsgradienten haben im Wesentlichen durch V_m , denn dieser Wert bestimmt den Schnittpunkt des niederohmigen Astes mit der Abszisse und damit den Betrag $I_{\max}$ und R_{Tr} . Aufgrund dieser einfachen im Kennlinienfeld geometrisch darstellbaren Zusammenhänge zwischen den gemessenen Größen lassen sich die speziellen Kennlinien eines Präparates für alle V_m aus einer einzigen stationären Kennlinie, z.B. der Gleichrichtercharakteristik bei Ruhepotential, auf einfachem Wege mathematisch herleiten (Gleichung 15 und 17).

Zur Darstellung der Meßkurven nach der von ALBRECHT-BÜHLER (1967) angegebenen Gleichung 17 ist die Angabe der 6, als einfache physikalische Größen direkt meßbaren, Parameter V_m , V_{mG} , V_{Tr} , ω , R_I , R_{II} hinreichend. Diese ist allerdings notwendig, da jeder der 6 Parameter einen spezifischen Einfluß auf die Kurvengestalt hat, der nicht durch die Änderung eines anderen erzeugt, oder kompensiert werden kann.

Da eine vollständige mathematische Beschreibung unserer Ergebnisse vorliegt, wird ein Vergleich der durch direkte Messung erhaltenen mit den nach HODGKIN und HUXLEY aus den Ergebnissen dynamischer Messungen abgeleiteten stationären K' -Kennlinien erleichtert.

2. Läßt sich die stationäre fallende Charakteristik durch die Gleichungen der Ionentheorie quantitativ oder qualitativ voraussagen?

Im Folgenden soll geprüft werden, ob die von HODGKIN und HUXLEY (1952) formulierten Gleichungen (HH-Formalismus), die die Nervenerregung beim Riesenaxon des Tintenfischs beschreiben, bzw. die später von FRANKENHAEUSER und HUXLEY (1964) auf die Erregung der markhaltigen Nervenfasern vom Krallenfrosch angepaßte Variante des HH-Formalismus, in der Lage ist, Voraussagen über das stationäre Strom-Spannungsverhalten der markhaltigen Nervenfasern zu machen und sich dessen Messung deshalb erübrigt, wie gelegentlich behauptet wurde (FRANKENHAEUSER, persönl. Mitteilung 1964). Wir gehen dabei von der Originalfassung der Gleichungen aus (HODGKIN und

HUXLEY 1952, s. dort auch math. Symbole und deren Definitionen). Das erscheint zulässig, da die Gleichungen der Ionentheorie für die markhaltige Nervenfasern keine wesentlich andere Formulierung besitzen, wenn man von der durch FRANKENHAEUSER und HUXLEY (1964) eingeführten "K⁺-Inaktivierung" absieht.

Die Membranstromdichte J (gemessen in A/cm²) errechnet sich nach

$$J = C \frac{dV}{dt} + \bar{g}_{Na} m^3 h (V - V_{Na}) + \bar{g}_K n^4 (V - V_K) + \bar{g}_L (V - V_L) \quad (25)$$

Stationäre Messung bedeutet, daß $dV/dt = 0$, $t \rightarrow \infty$. Bei $dV/dt = 0$ geht natürlich $C \frac{dV}{dt} \rightarrow 0$, außerdem geht bei $t \rightarrow \infty$ $\bar{g}_{Na} \rightarrow 0$. So erhalten wir für die stationäre Messung

$$J(t \rightarrow \infty) = J_K(t \rightarrow \infty) + J_L(t \rightarrow \infty)$$

Da sich der Abszissenschnittpunkt von R_I , welcher den Leckwiderstand repräsentiert, in unseren Messungen systematisch mit V_K ändert, ist zu vermuten, daß V_K die Leckspannung beeinflusst. Wird eine stationäre Depolarisation durch Veratridinvergiftung, also mithilfe von Na⁺ (oder dessen Substituenten) herbeigeführt, ändert sich der Abszissenschnittpunkt von R_I nicht mit V_m , sondern bleibt unverändert bei V_{Na} . Es sei daran erinnert, daß der über den Nebenschluss im Luftspalt fließende Strom an dem von uns gemessenen Leckstrom R_I einen größeren Anteil hat als an R_{II} . Die lineare Abhängigkeit der Depolarisationsspannung und des Maximalstromes von $\log [K^+]_a$ spricht dafür, daß bei erhöhter $[K^+]_a$ - abgesehen vom Leckstrom J_L - in der Hauptsache tatsächlich K⁺-Ionen Träger des elektrischen Stromes sind.

Nach Gleichung (25) gilt

$$\begin{aligned} g_K &= \bar{g}_K n^4 \\ n &= n(V, t) \end{aligned}$$

beschrieben durch

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n (1 - n) - \beta_n \cdot n \quad (26)$$

worin α_n und β_n V-abhängige Ratenkonstanten mit der Dimension t⁻¹ sind;

die Lösung von (26) ist

$$n = n_{\infty} - (n_{\infty} - n_0) e^{-\frac{t}{\tau}}$$

$$(t \rightarrow \infty) \rightarrow n \rightarrow n_{\infty} = \frac{\alpha_n}{\alpha_n + \beta_n}$$

somit ergibt sich für die stationäre Messung

$$J = J_{t \rightarrow \infty} = \bar{g}_K n_{\infty}^4 (V - V_K) + g_L (V - V_L)$$

Wenn die Meßwerte von FRANKENHAEUSER (1962) für g_K und g_L und für die Funktion $n_{\infty} = n_{\infty}(V)$ eingesetzt werden und außerdem n^4 nach dem Vorschlag von FRANKENHAEUSER durch n^2 ersetzt wird, sollte diese Gleichung die stationäre Strom-Spannungs-Kennlinie quantitativ wiedergeben.

Abb. 35 a-c zeigt das Ergebnis der von ALBRECHT-BÜHLER (1967) am Analogrechner (Type EASE, Beckman) für $J_K(V)$ bzw. $J_K(V) + J_L(V)$ durchgeführten Rechnungen. Die Gestalt von $n_{\infty}(V)$ ist in Abb. 34 dargestellt. Während die Abszisse in allen Darstellungen der Abb. 34 im gleichen Spannungsmaßstab geeicht werden konnten, musste auf eine Eichung der Stromachse außer in Abb. 34d verzichtet werden, da FRANKENHAEUSER wegen der unbekannten Größe der Membranfläche am Schnürring für die Werte g_K und g_L eine systematische Abweichung bis zum Faktor 10 zulässt.

Abb. 35d gibt zum Vergleich eine eigene Meßkurvenschar (*Rana esculenta*) wieder. Die Stromachse wurde, wie es in der Ionentheorie üblich ist, in Stromdichte (A/cm^2) geeicht. Die Umrechnung nahmen wir ebenso wie FRANKENHAEUSER unter der - allerdings recht problematischen - Annahme vor, daß die Fläche der erregbaren Membran des Schnürrings $F = 1 \mu m^2$.

Die Gegenüberstellung der nach der Ionentheorie errechneten und der gemessenen stationären Kennlinie ergibt folgende Identifikationen (ALBRECHT-BÜHLER):

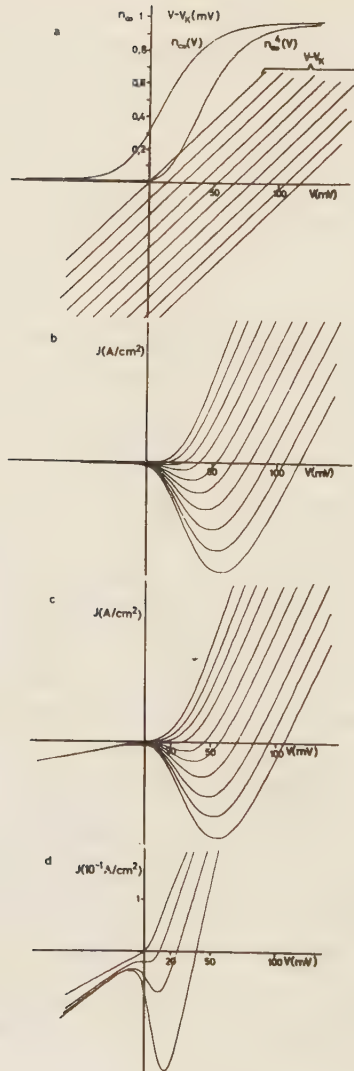


Abb. 35 Vergleich zwischen den nach HODGKIN und HUXLEY berechneten und den am Schnürring gemessenen stationären Kennlinien.
a) Terme des K^+ -Stromes nach den HH-Gleichungen: $f_1(V) = n_{\infty}(V)$ bzw. $n_{\infty}^4(V)$ und $f_2(V) = V - V_K$. b) Kennlinienschar erhalten durch Multiplikation der in a dargestellten Funktionen. c) Addition eines konstanten Leckwiderstandes zu den in b dargestellten Kennlinien. d) Am Schnürring gemessene Kennlinienschar (Schnürring 289/65).

Identifikation

- 1) $F \bar{g}_L = 1/R_I$
- 2) $F(g_K + g_L) = 1/R_{II}$
- 3) $V_m = \frac{\bar{g}_L V_L + \bar{g}_K V_K}{\bar{g}_L + g_K}$
 (gilt nur für $[K^+]_a > 15$,
 wo $g_K = \bar{g}_K$ ist)

Begründung

Der hochohmige Ast wird in den gerechneten Kurven nur durch $J_L(V)$ dargestellt. Im Bereich des niederohmigen Astes addieren sich Leckstrom und K^+ -Grenzstrom.

Würde die stationäre Kennlinie allein durch die K^+ -Leitfähigkeit bestimmt, so läge der Abszissenschnittpunkt exakt bei V_K . Durch den Leckstrom wird er jedoch in Polarisationsrichtung verschoben.

Unterschiede, die der qualitative Vergleich zwischen den nach HODGKIN und HUXLEY bzw. FRANKENHAEUSER und HUXLEY errechneten und den gemessenen Kurven aufzeigt, weisen auf einige Eigenschaften der Meßkurven hin, die durch den HH-Formalismus offensichtlich nicht vorausgesagt werden können. Um die errechneten Kurven qualitativ an die gemessenen anpassen zu können, müssen diese Eigenschaften durch Forderungen berücksichtigt werden, die sich erst nachträglich durch die Kenntnis der stationären Kennlinien ergeben.

Forderung

- 1) $V_L < V_m$
- 2) V_L ist abhängig von $[K^+]_a$
 $(V_L = V_m - 11 \cdot \ln \frac{[K^+]_a}{5})$
- 3) $F \bar{g}_L$ und $F \bar{g}_K$ sind
 abhängig von $[K^+]_a$

Begründung

Der hochohmige Ast zielt auf einen Spannungswert, der gegenüber V_m in Polarisationsrichtung verschoben ist.

Der hochohmige Ast verschiebt sich bei annähernd gleicher Steigung in Abhängigkeit von $[K^+]_a$.

Die Steigungen von R_I und R_{II} sind nicht konstant. Diese $[K^+]_a$ -Abhängigkeit wird von FRANKENHAEUSER berücksichtigt. Dabei genügt die Änderung von R_I nicht, um die von R_{II} zu erklären.

Der quantitative Vergleich ergibt die in der folgenden Tabelle aufgeführten Unterschiede der positiven Leitfähigkeiten und des Übergangsbereichs, in welchem diese Leitfähigkeiten ineinander übergehen.

Charakteristische Größen der statio- nären Kennlinie		HODGKIN u. HUXLEY 1952 Loligo Pealii	FRANKEN- HAEUSER 1962, 1963 Xenopus laevis	MÜLLER- MOHNSSEN u. BALK Rana esculenta	
g_I	$10^{-3} \left[\frac{\text{mho}}{\text{cm}^2} \right]$	$\bar{g}_I = \bar{g}_L$	0,3	30	14
g_{II}	$10^{-3} \left[\frac{\text{mho}}{\text{cm}^2} \right]$	$\bar{g}_{II} = \bar{g}_L + \bar{g}_K$	36,3	270 $(\bar{g}_K = P_K \frac{F^2}{RT} [K_i])$	88
ΔV_{Tr}	[mV]	70-80	50	22	

Es besteht immerhin die Möglichkeit, daß die Unterschiede zwischen den für das Riesenaxon von Squid errechneten und den an der markhaltigen Faser von Rana esculenta gemessenen Werten allein auf den unterschiedlichen Präparaten beruhen. Dazu kommt ein Fehler unbekannter Größe, der durch die Umrechnung der an markhaltigen Nervenfasern gemessenen Ströme in Stromdichte A/cm² entsteht, da die Fläche der erregbaren Membran am Schnürring unbekannt ist. Den gleichen Fehler enthalten allerdings die von FRANKENHAEUSER für die markhaltige Nervenfasern von Xenopus laevis errechneten Werte. Eigene Untersuchungen an Einzelfasern von Xenopus laevis (10 Versuche) führten zu dem Ergebnis, daß keine erkennbaren Unterschiede zwischen den stationären Kennlinien bei Xenopus laevis und Rana esculenta meßbar sind. So bleibt die Tatsache bestehen, daß die Abweichungen der nach FRANKENHAEUSER errechneten von den gemessenen Werten mit 300% überraschend groß sind.

Es ergibt sich somit zusammenfassend, daß der HH-Formalismus den Verlauf der gemessenen Kennlinien in groben Zügen wiedergibt. Genauere qualitative Voraussagen sind jedoch nicht möglich. Die Gleichungen der Ionentheorie können bei Kenntnis der Meßergebnisse im Nachhinein an die stationären Kennlinien angepaßt werden, ohne daß sich dadurch Widersprüche innerhalb des HH-Formalismus ergeben. Diese Anpassung erstreckt sich auf die Forderungen 1-3. Eine nachträgliche qualitative Anpassung schließt eine quantitative Vorhersage von vornherein aus. So zeigen die aus den HH-Gleichungen unter Verwendung von dynamischen Meßdaten abgeleiteten Vorhersagen über g_I , g_{II} und ΔV_{Tr} erhebliche Abweichungen von unseren Meßergebnissen. Allein aus diesem Grunde ist die bisher versäumte direkte Messung des stationären Strom-Spannungsverhaltens unumgänglich.

Darüber hinaus ist die Anwendung der angepassten HH-Gleichungen auf die gemessene Kennlinienschar wegen der großen Zahl der Konstanten und Variablen außerordentlich umständlich. Für die Beschreibung der stationären Kennlinien ziehen wir aus folgenden Gründen die obengenannte Arbeitsformel (Gl. 17) vor: 1. (17) ist einfacher und daher übersichtlicher als die aus dem HH-Formalismus abgeleitete Gleichung für stationäre Kennlinien, was besonders deutlich wird, wenn man für $n_{\infty} = \alpha_n / (\alpha_n + \beta_n)$ einsetzt. 2. Die durch (17) definierten Parameter besitzen anschaulich physikalische Bedeutung. Weitere Gründe für die Verwendung der Arbeitsformel werden im Anschluß an die folgenden Abschnitte B und C dieses Kapitels genannt.

3. Die physikalische Interpretation der Hysterese aus zeitabhängigen Eigenschaften der Membran

Ehe wir auf die vergleichenden Betrachtungen des stationären und des dynamischen Strom-Spannungsverhaltens beim AP eingehen, sei auf die Hysterese hingewiesen. Diese wird durch eine Abhängigkeit der in Depolarisationsrichtung abgetasteten Kennlinie von der dV/dt der Meßspannung verursacht, die bereits bei $dV/dt = 1 \text{ mV/sec}$ besteht. Dies ist eine Anstiegssteilheit der Meßspannung, die sich für eine stationäre Messung eignet, wenn in Polarisationsrichtung abgetastet wird.

Was die Hysterese physikalisch bedeutet, läßt sich aus der physikalischen Interpretation der von den Kennlinien eingeschlossenen Fläche $\oint$ allgemein ableiten.

$$d\oint = I \cdot dV = dV/dt \cdot I dt = dV/dt \cdot dQ = v \cdot dQ$$

dV/dt , die Abtastgeschwindigkeit, ist in der einzelnen Kennlinie eine Konstante $v \text{ [Volt/sec]}$.

Somit ist $d\oint$ proportional derjenigen Ladungsmenge dQ , welche die Meßanordnung in der Zeiteinheit dt liefern muß, wenn die Spannung in dieser Zeiteinheit von V auf $V+dV = V+v \cdot dt$ vergrößert wird. Die gesamte, unter der Kennlinie liegende Fläche ist daher ein Maß für die gesamte, durch die Meßanordnung gelieferte Ladung, wenn z.B. von V_I bis V_{II} , also in Depolarisationsrichtung abgetastet wird:

$$Q_{(V_I \rightarrow V_{II})} = \frac{1}{v} \int_{V_I}^{V_{II}} I(V) dV$$

Wird die Abtastung in der umgekehrten Richtung wiederholt, so erhält man die Fläche:

$$Q_{(V_I \leftarrow V_{II})} = \frac{1}{-v} \int_{V_{II}}^{V_I} I(V) dV = \frac{1}{v} \int_{V_I}^{V_{II}} I(V) dV$$

Die zwischen den Kurven eingeschlossene Fläche $\Delta \Phi$, also die Hysterese, ist:

$$\Delta \Phi = v \cdot \Delta Q = vQ_{(V_I \rightarrow V_{II})} - vQ_{(V_I \leftarrow V_{II})}$$

ΔQ beschreibt damit den von der Abtastgeschwindigkeit abhängigen Unterschied zwischen den Ladungsmengen, die für die Abtastung der Kennlinie in den beiden Richtungen $V_I \rightarrow V_{II}$ und $V_{II} \rightarrow V_I$ von der Meßanordnung aufgebracht werden müssen.

Im Hysteresebereich gilt offenbar $\Delta Q \neq 0$. Daraus folgt formal, daß der Schnürring bei der aufeinanderfolgenden Abtastung der Kennlinie in beiden Richtungen in einem bestimmten Spannungsbereich – je nach dem Vorzeichen von ΔQ – Ladung speichern, bzw. abgeben kann. Da sich die Kennlinien bei $[K]_a > 30 \text{ mM/l}$ schneiden, treten beide Fälle auf. Wenn wir annehmen, daß die in Richtung $V_{II} \rightarrow V_I$ abgetastete Kennlinie v -unabhängig ist (vgl. große Achse der Phasenellipse eines Kondensators), dürfen wir folgern, daß der Schnürring während der Abtastung $V_I \rightarrow V_{II}$ bei Spannungen, die positiv sind gegenüber der Schnittpunkt-Spannung, Ladung speichert (ΔQ positiv), während er bei negativeren Spannungen Ladung abgibt (ΔQ negativ).

B. Qualitativer Nachweis der Zusammenhänge zwischen Aktionspotential und stationärer Kennlinie

Mit zunehmender dV/dt der Meßspannung verschiebt sich die in Polarisationsrichtung abgetastete Kennlinie zu größeren Einwärtsströmen, während sich die in Depolarisationsrichtung abgetastete nach größeren Auswärtsströmen verschiebt und gleichzeitig zunehmend flacher verläuft. Dadurch wird die Hysteresefläche zunehmend größer und verändert - vorwiegend durch die besonders starke Deformierung der in Depolarisationsrichtung abgetasteten Kurve - ihre Form. Bei einer $dV/dt > 3000 \text{ mV/sec}$ tritt - sofern der Bereich negativen Widerstandes angesteuert wird und eine ausreichende Menge phasisch beweglicher Ladungsträger in der Außenlösung vorhanden ist (z.B. wenn $[Na]_a > 2,5 \text{ mM/l}$) - ein neuer Vorgang auf: ein regenerativer phasischer Einwärtsstrom. Es genügen dafür Außenkonzentrationen von $\approx 5 \text{ mM/l}$ des phasisch beweglichen Ions. Dieser phasische Einwärtsstrom führt bei Reizung mit eingepprägtem Strom zum Prozess der digitalen Verstärkung, dessen gesetzmäßiger Zusammenhang mit den stationären Eigenschaften anhand der experimentellen Ergebnisse zu diskutieren ist.

Das dynamische und stationäre Strom-Spannungsverhalten des Schnürrings läßt sich im gleichen Meßgang untersuchen, wenn im Außenmedium gleichzeitig stationär und phasisch bewegliche Ladungsträger vorhanden sind, und wenn die Versuchsanordnung derartig konstruiert ist, daß die stationären Vorgänge mit eingepprägter Spannung, die dynamischen dagegen in der gleichen Zeitspanne intermittierend mit eingepprägtem Strom gemessen werden können.

Der Vergleich stationärer Na^+ (Li^+ , NH_4^+ usw.)- und K^+ (Rb^+)-Kennlinien zeigt, daß sich der negative Widerstand für alle stationär und phasisch beweglichen Ionen auf einen Übergangsbereich von fester Breite ΔV_{Tr} und - von einer geringen Verschiebung mit Veränderung von $[K^+]_a$ abgesehen - fester Lage V_{Tr} zurückführen läßt. Dem entspricht die Beobachtung, daß die Depolarisations- und Repolarisationsschwellen der (Na^+ -) Aktionspotentiale nahezu unabhängig vom Arbeitspunkt bei einem festen Wert innerhalb des aus der stationären (K^+ -) Kennlinie ableitbaren Übergangsbereiches liegen.

Der Vergleich der stationären mit dynamischen Messungen bestätigt damit qualitativ: 1. daß die Bedingung für das regenerative Verhalten des Schnürrings nur dann gegeben ist, wenn die Summe der Realteile aller Zuleitungs-

widerstände und des Membranwiderstandes negativ wird und 2. daß der negative Widerstand auf eine allgemeine, vom Ladungsträger unabhängige Membraneigenschaft, nämlich den Übergangsbereich zurückgeht und es daher prinzipiell möglich ist, eine K^+ -Kennlinie als Indikator für dasselbe Membranverhalten heranzuziehen, das auch dem normalen Na^+ -AP zugrundeliegt.

Die in einem Experiment gemessene spezielle K^+ -Kennlinie ist jedoch (außer bei gleichen Konzentrationsgradienten der phasisch und stationär verglichenen Ionen) nicht die für den gesamten Verlauf der im gleichen Experiment gemessenen AP gültige stationäre Kennlinie. Das wird am deutlichsten durch den Unterschied zwischen dem niederohmigen Ast der Umhüllenden über die Spitzenpotentiale und R_{II} der gleichzeitig gemessenen stationären Kennlinie bei Bepflung mit isosmotischen KCl -Ringerlösungen" veranschaulicht (Abb. 23).

Die Messung von AP und stationärer Kennlinie eines Schnürrings im gleichen Außenmedium schließt ein, daß hier jeweils ein Ladungsträger-Anteil enthalten ist, der - in Form der Kennlinie - nur stationär, nicht aber dynamisch erfaßt wird (z.B. K^+), und ein anderer, der - in Form des AP - nur dynamisch, nicht aber stationär gemessen wird (z.B. Na^+). Bei diesen Messungen wächst der stationär meßbare Anteil der Einwärtsströme mit $[K^+]_a$. Gleichzeitig nimmt die extracelluläre Konzentration von Na^+ , das nur für die Dauer eines AP Einwärtsströme übernehmen kann, direkt proportional ab. Werden stationäre Kennlinie und AP desselben K^+ -depolarisierten Schnürrings in diesen Lösungen registriert, so wird damit getrennt der stationär und der dynamisch meßbare Anteil der elektrischen Eigenschaften gemessen. Das Verhältnis des stationären zum dynamisch meßbaren Anteil ist im einzelnen Fall vom Verhältnis der Konzentrationen abhängig. So verläuft R_{II} der stationären Kennlinie entsprechend der K^+ -Depolarisationsamplitude, während die Amplitude der Aktionspotentiale einen von der jeweiligen $[Na^+]_a$ abhängigen anderen R_{II} erreicht, dessen Abszissenschnittpunkt überwiegend von V_{Na} bestimmt wird.

Dagegen sind Lage und Breite des Übergangsbereichs Tr und damit auch die Lage der Spannungsbereiche I und II für die einzelne Membranfeste Werte, unabhängig von der Art und in weiten Grenzen auch von der Konzentration der verwendeten Ladungsträger. Wenn die geringe systematische Verschiebung von V_{Tr} mit $[K^+]_a$ berücksichtigt wird, können bei Kenntnis der Arbeitsgeraden

für den Strom-Reiz die Schwellen der Na^+ -Aktionspotentiale aus einer beliebigen K^+ -Kennlinie des gleichen Präparates ermittelt werden, nicht dagegen die Amplitude. Die Amplitude wird durch den Abszissen-Schnittpunkt von R_{II} bestimmt und wäre nur für den speziellen Fall, daß der Konzentrationsgradient der stationär und phasisch beweglichen Ladungsträger identisch ist, aus der im gleichen Meßgang registrierten stationären Kennlinie ableitbar. Diese Bedingung ist experimentell schwer realisierbar. Im einzelnen Versuch differieren daher die stationären Kennlinien für alle stationär und phasisch beweglichen Ladungsträger durch unterschiedliche Schnittpunkte von R_{II} mit der Abszisse entsprechend dem gerade herrschenden Konzentrationsgradienten der betrachteten Ionenart. Die Kennlinien für verschiedene Ladungsträger unterscheiden sich also im wesentlichen durch eine ihrem jeweiligen Konzentrationsgradienten entsprechende Parallelverschiebung von R_{II} . So läßt sich eine für die anwesenden phasisch beweglichen Ladungsträger gültige, aber bei unverändertem Außenmedium nicht meßbare stationäre Kennlinie aus der direkt meßbaren Kennlinie für die gleichzeitig anwesenden stationär beweglichen Ladungsträger nach Gl. 17 berechnen, wenn der Konzentrationsgradient der phasisch beweglichen Ionenart und damit deren Gleichgewichtspotential bekannt ist.

Die intraaxonale Konzentration der Ionen ist im einzelnen Experiment nicht direkt meßbar. Außerdem ist die Lage von R_{II} nicht durch das theoretische NERNST-Potential definiert, sondern durch $\bar{V}_m$, also durch das tatsächlich auftretende - wegen der parallelgeschalteten Innenleitfähigkeit der anderen Batterien kleinere - Summenpotential. Diese inneren Nebenschlußwiderstände in der Membran sind von Experiment zu Experiment etwas verschieden. Außerdem ist die Genauigkeit der stationär und dynamisch gemessenen Spannungswerte verschieden. Eine quantitative experimentelle Beweisführung der Zusammenhänge zwischen den Meßgrößen AP und stationärer Kennlinie ist allein schon deswegen prinzipiell nicht möglich, weil sich die stationäre und phasisch regenerative Beweglichkeit desselben Ions in der gleichen Messung, d.h. unter gleichen älteren Bedingungen, ausschließen. So ist vorerst nur ein qualitativer Vergleich zwischen den entsprechenden Spannungswerten der stationären Kennlinie und des AP durchführbar.

Aus getrennten Messungen wissen wir, daß die für phasisch bewegliche Ionen gültige stationäre Kennlinie aus der K^+ -Kennlinie ableitbar ist. So war zu erwarten, daß die Schwellenspannungen des AP auf die Extrema der im gleichen Experiment gemessenen stationären K^+ -Kennlinie zu beziehen sind. Im gleichen Experiment unterscheiden sich die Kennlinien für die stationär und phasisch bewegliche Ionenart in der Hauptsache durch eine Parallelverschiebung von R_{II} entsprechend der an die verschiedenen Konzentrationsgradienten ge-

bundenen verschiedenen Gleichgewichtspotentiale. Die Spitzenspannung des AP muß daher mit einer für das regenerativ bewegliche Ion errechneten Kennlinie verglichen werden. Die Messungen zeigen, daß diese zu erwartenden Beziehungen zwischen den entsprechenden Spannungswerten der Kennlinie und des AP tatsächlich bestehen. Nach diesen Ergebnissen eignet sich K^+ vorteilhaft als Indikator für die auch während der AP gültigen stationären Membraneigenschaften. Vorteilhaft vor allem, weil die K^+ -Kennlinie ohne pharmakologische Veränderungen unter den gleichen Außenbedingungen und im gleichen Meßgang mit den AP registriert werden kann. Aus der K^+ -Kennlinie können die wesentlichen stationären Membraneigenschaften abgeleitet werden, die auch für die übrigen an der Funktion beteiligten Ladungsträger, insbesondere für Na^+ gelten.

C. Vergleich zwischen stationärem Strom-Spannungsverhalten und dynamisch ablaufender Funktion der Membran bei veränderten extracellulären Bedingungen

Ganz andere, im 2. Teil der Ergebnisse (Abschnitt D 2) beschriebene Experimente liefern dafür eine weitere Bestätigung. Durch physikalische und physikalisch-chemische Veränderung des extracellulären Mediums wird die während einer Veratridinvergiftung der Membran meßbare stationäre Na^+ - (oder Substituenten-)Kennlinie in der gleichen Weise verändert wie die K^+ - (Rb^+ -) Kennlinie. Durch Nachberechnung mit Gl. 17 läßt sich feststellen, welcher der 6 Parameter durch diese Einflüsse am stärksten betroffen wird. Es ließ sich z.B. feststellen, daß die bei einer Änderung von $[Ca^{+2}]_a$ zu beobachtenden Kennlinienveränderungen fast ausschließlich auf eine Verschiebung von V_{Tr} zurückgehen.

Durch derartige äußere Einwirkungen wird in jedem Fall die Lage der Extrema und der Betrag von R_{Tr} in den stationären Kennlinien beeinflusst. Entsprechend verändern sich die unter den gleichen Bedingungen gemessenen AP. Verschieben sich nämlich die Extrema der stationären Kennlinie unter der Einwirkung von "Stabilisatoren" bzw. "Labilisatoren", so verschieben sich auch die Schwellenspannungen des Na^+ -AP in der gleichen Richtung. Wird der Betrag R_{Tr} der stationären Kennlinie durch eine äußere Einwirkung (pH 4,5) positiv, so ist unter der gleichen Einwirkung kein Na^+ -AP mehr auslösbar.

Vorerst beschränkt sich die Feststellung, daß Zusammenhänge zwischen AP und stationärer Kennlinie bestehen, auf die Aussage, daß eine Bindung der 3 ausgezeichneten Spannungswerte des AP, sowie der Fähigkeit zur digitalen Verstärkung überhaupt, an die aus der stationären Kennlinie ablesbaren Extremalbedingungen qualitativ nachgewiesen ist. Über die während des AP auftretenden zeitlichen Verläufe kann die stationäre Kennlinie allein keine Aussagen machen. Die Frage, ob eine Bindung der während des AP zwischen den 3 ausgezeichneten Spannungswerten auftretenden Spannungsverläufe an entsprechende Abschnitte der stationären Kennlinie besteht, wird zur Zeit untersucht.

Auch diese Ergebnisse weisen darauf hin, daß sich Depolarisationsschwelle, Repolarisationsschwelle und Amplitude des AP, sowie die Fähigkeit zur Regenerativität überhaupt, direkt aus den Extremalbedingungen ableiten lassen, die durch die stationäre Kennlinie und damit durch eine permanente Eigenschaft der erregbaren Membran gegeben sind. Weiter ergibt sich daraus, daß nicht nur die Extremalbedingungen selbst, sondern auch deren durch äußere Einwirkungen hervorgerufenen Veränderungen bereits aus der stationären K^+ -Kennlinie ableitbar sind.

Diese Tatsache ist nicht nur für das Verständnis der Membranfunktion von Bedeutung, sondern auch für die Beschreibung der Funktion unter normalen und veränderten Bedingungen. Bisher wurden die durch physikalisch-chemische, pharmakologische Einflüsse bewirkten Veränderungen der Schwellenspannungen und der Regenerativität durch die Differentialgleichungen der Ionentheorie in komplizierter Weise beschrieben und durch Veränderungen der hypothetischen Carriersysteme erklärt. Dazu war ein erheblicher Meß- und Rechenaufwand erforderlich. Die Rückführung auf die stationäre Kennlinie reduziert den Meßaufwand und ermöglicht eine Erklärung der Erregbarkeits- und Schwellenänderungen unmittelbar aufgrund der veränderten stationären Membraneigenschaften.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß sich die fallende Charakteristik, die eine notwendige physikalische Bedingung für die Verstärkerfunktion eines Zweipols darstellt, an der erregbaren Membran des Schnürrings als stationäre Eigenschaft für alle Ionenarten nachweisen läßt, deren Konzentrationsgradient entweder das Ruhepotential oder das Aktionspotential bestimmt. Es spielt dabei keine Rolle, ob diese Ionen der Gruppe der phasisch beweglichen Na^+ -Ionen, oder der Gruppe der stationär beweglichen K^+ -Ionen angehören, ob sie unter den Bedingungen des normalen Lebens, oder ob sie als Na^+ - oder K^+ -Substituenten nur unter den Bedingungen des Experimentes vorkommen. Die Übereinstimmung der Ergebnisse mit den Voraussagen be-

stätigt die eingangs gestellte Prämisse, daß die erregbare Membran als elektrischer Zweipol zu betrachten ist, und daß folglich die Anwendung der begrifflichen Trennung von Energiequellen (energetischer Aspekt) und Steuerelement (funktioneller Aspekt) auf den Membranverstärker gerechtfertigt ist.

D. Die Entwicklung einer quantitativen Beschreibung des AP aufgrund der stationären Membrankennlinie

Dem Formalismus der Ionentheorie, der den Ablauf des AP vollständig beschreibt, können Hinweise auf das stationäre Membranverhalten entnommen werden, wenn die Gleichungen in geeigneter Weise umgeschrieben und neu interpretiert werden. Gleichzeitig wird dabei ein explizit zeitabhängiger Term abgetrennt, der eine weitere notwendige Bedingung für die Verstärkerfunktion beschreibt, nämlich ein bestimmtes von der zeitlichen Ableitung dV/dt abhängiges Membranverhalten. Das soll am Beispiel des K^+ -Terms des HH-Formalismus dargestellt werden:

$$(1) \quad I = C \frac{dV}{dt} + \bar{g}_K n^4 (V - V_K)$$

$$n = n_{\infty} - \underbrace{(n_{\infty} - n_0) \exp(-\frac{t}{\tau_n})}_{b(t)}$$

$$n^4 = (n_{\infty} - b(t))^4 =$$

$$n^4 = 4n_{\infty}^3 b(t) + 6n_{\infty}^2 b^2(t) - 4n_{\infty} b^3(t) + b^4(t);$$

eingesetzt in (1)

$$I = C \frac{dV}{dt} + \bar{g}_K n_{\infty} (V - V_K) - \bar{g}_K (V - V_K) \left[4n_{\infty}^3 b(t) - 6n_{\infty} b^2(t) + 4n_{\infty} b^3(t) - b^4(t) \right]$$

oder in vereinfachter Schreibweise für den gesamten Ausdruck (Gl. 27, S. 159)

$$\begin{aligned}
 I = & C \frac{dV}{dt} + G_K(V) (V - V_K) + G_K(V, t) (V - V_K) \\
 & + G_{Na}(V) (V - V_{Na}) + G_{Na}(V, t) (V - V_{Na}) \\
 & + G_L(V) (V - V_L) + G_L(V, t) (V - V_L)
 \end{aligned} \tag{27}$$

I
II
III

Term I gibt den kapazitiven Strom an, Term II den stationären Ionenstrom, Term III ist ein explizit zeitabhängiger Term. Term II dieser Gleichung gibt den Verlauf der gemessenen Kennlinie in groben Zügen wieder.

Die Ionentheorie sieht eine explizit zeitabhängige Leitfähigkeitssteuerung der Membran (Term III) als unerlässlich an. Man kann eine mathematische Begründung dafür angeben, daß die Existenz einer Bindung (hier zwischen Strom und Spannung) in den beschreibenden Differentialgleichungen eines Vorgangs explizit die unabhängige Variable (hier t) auftreten lassen kann, sobald man die Wirkung der Bindung auf den Vorgang nicht von dessen freier "Bewegungsgleichung" trennt. Die Vermutung, daß Term III sich aus der ignorierten Existenz der Bindung durch den Term II erklärt, ist zunächst nicht zu widerlegen, so daß das Abgehen von der Beschreibungsweise der Ionentheorie allein aus diesem Grunde berechtigt erscheint.

Für die Berechnung des AP aufgrund der stationären Kennlinie wird vorausgesetzt, daß der zeitabhängige Leitfähigkeitsterm nicht Konsequenz eines unaufgeklärten chemischen (Carrier-)Mechanismus ist, sondern Konsequenz des direkt meßbaren zeitunabhängigen Strom-Spannungsverhaltens in Verbindung mit einem elektrischen Ersatzschaltbild der Membran, das sich morphologisch begründen läßt. Der Vorteil einer solchen, ausschließlich von der Elektrizitätslehre ausgehenden Beschreibung des AP gegenüber des Formalismus der Ionentheorie, besteht in der Reduktion der zu messenden Konstanten und Variablen und damit des Meßaufwandes und ferner in der Rückführung auf gut untersuchte physikalische Systeme: Zweipole (Membrankennlinien) und Netzwerke (Ersatzschaltbild des Präparates). Wie diese neueren Untersuchungen von STANEK zeigen, läßt sich von Gl. 17 ausgehend ein System von Differentialgleichungen entwickeln, das als Lösung den zeitlichen Verlauf von Aktionspotentialen liefert, jedoch mit einer kleineren Zahl von Parametern und Differentialgleichungen auskommt als der HH-Formalismus.

Da die Beschreibung der elektrischen Membranfunktion hiermit vollständig in der Begriffswelt der Elektrizitätslehre durchgeführt wurde, erhalten wir gleichzeitig ein Funktionsschema, das direkt in eine Modellschaltung übertragen werden kann. Die einzelnen Schaltelemente geben hierin die durch experimentelle Ergebnisse bekannte Verknüpfung der am Präparat im einzelnen wirklich meßbaren elektrischen Eigenschaften wieder. Durch Veränderung der Parameter in diesem Modell lassen sich Voraussagen über das dynamische Verhalten des Präparates bei Veränderung der entsprechenden Parameter machen.

Ein derartiges, von STANEK entwickeltes Modell, das im Wesentlichen aus einer Backward-Diode in einfacher Beschaltung besteht, gibt die für die Membranfunktion charakteristischen Experimente vollständig wieder: 1. das Aktionspotential, 2. das "voltage-clamp"-Experiment und 3. die Schar stationärer Kennlinien.

Im Modell, das aus Leitern 1. Ordnung oder Halbleitern besteht, werden die Parameter durch Verstellen von Potentiometern verändert. Dagegen erfolgen die Veränderungen der Parameter am biologischen Präparat, das aus Leitern 2. Ordnung besteht, durch Veränderung der chemischen Zusammensetzung der umgebenden Lösungen. Während die Leitungsmechanismen der Schaltelemente des Modells sehr gut bekannt sind, greifen wir durch die Veränderung des Außenmediums und damit der Parameter des biologischen Präparates in eine wenig bekannte morphologische Struktur und damit in noch unbekanntere Leitungsmechanismen ein.

Hiervon geht wohl zum Teil das Mißtrauen aus, das einer rein physikalischen Behandlung der Membranfunktion erfahrungsgemäß entgegengebracht wird. Da diese letztlich eine Erklärung der Funktion durch ein elektrisches Funktionsschema anstrebt, wird fälschlich vermutet, eine physikalische Behandlung erschöpfe sich in einer elektrotechnischen Realisierung der Funktion durch ein Modell. Dieser Schluß erscheint naheliegend, da die als elektrische Modell ausgeführte mathematische Beschreibung - sofern sie sich auf Gesetzmässigkeiten der Elektrizitätslehre gründet - als spezieller Analogrechner direkt das elektrische Membranverhalten wiedergibt. Grund dafür ist, daß die Gesetzmässigkeiten der Elektrodynamik für Elektronen-, oder Ionenströme, bzw. für Leiter 1. oder 2. Ordnung, also für das biologische Präparat wie für ein geeignetes Modell in gleichem Masse gelten.

Durch die Berechnung und durch das Modell wird erneut bestätigt, daß die stationäre Kennlinie die zeitunabhängige und damit die allgemeine Form des Strom-Spannungsverhaltens der erregbaren Membran darstellt, aus der sich das Strom-Spannungsverhalten während der Erregung als spezielle, zeitabhängige Form durch Berücksichtigung der dV/dt -abhängigen Eigenschaften der Membran ableitet.

E. Die von der zeitlichen Ableitung der Spannung abhängigen Membraneigenschaften und ihre Beeinflussung durch Pharmaca

Da die dV/dt -abhängigen Membraneigenschaften nicht zum Thema dieser Arbeit gehören, sollen sie in diesem Abschnitt nur am Rande erwähnt werden.

Zu diesen dV/dt -abhängigen Eigenschaften zählt in erster Linie die Fähigkeit der Membran, die Beweglichkeit der verschiedenen am Erregungsprozess beteiligten Ionenarten selektiv in 2 Richtungen zu beeinflussen, so daß neben der Leckleitfähigkeit nur 2 Alternativen bestehen: entweder ist ein Ladungsträger stationär beweglich und bestimmt folglich das Ruhepotential, oder er nimmt phasisch, d.h. nur für die Dauer von $\approx 100 \mu\text{sec}$ eine Beweglichkeit an, die die der stationär beweglichen weit überschreitet und bestimmt daher das AP. Die Form und insbesondere die Dauer des AP ändert sich nur unwesentlich mit dem speziellen Ladungsträger. Die phasischen Leitfähigkeitsänderungen der Membran, die den Verlauf des AP derart steuern, daß eine konstante, vom Ladungsträger unabhängige Impulsdauer von 1 msec resultiert, beruhen ebenso wie die stationäre Kennlinie auf einer spezifischen Membraneigenschaft. Diese zeitabhängigen Eigenschaften sind für die Tatsache verantwortlich, daß durch verschiedene Konzentrationsgradienten von 2 gleichzeitig vorhandenen, aber verschiedenen Ionensorten an der gleichen Membran alternativ 2 verschiedene Spannungen, nämlich das Ruhepotential und das AP erzeugt werden können.

In dem zeitabhängigen Term ist offenbar vor allem eine Eigenschaft der Membran beschrieben, durch die sie zwischen Na^+ und K^+ unterscheiden kann. Diese K^+ - Na^+ -Selektivität bewirkt, daß Na^+ sehr schnell durch die Membran strömen kann, während der K^+ -Strom verzögert wird. Der initiale Vorgang beim AP wird durch eine Na^+ -Kennlinie bestimmt, dann tritt verzögert der stationäre K^+ -Strom ein und stellt die Ruhe-Bedingungen wieder her.

Ebensowenig wie über die molekularen Ursachen der Eigenschaft: stationäre Kennlinie, wissen wir über den molekularen Mechanismus dieser 2. Eigenschaft, der Na^+ - K^+ -Selektivität. Wir können jedoch mit einer Reihe pharmakologischer Substanzen nämlich den Lokalanaesthetica gezielt in diesen Mechanismus eingreifen.

Während wir mit physikalischen und physikalisch-chemischen Veränderungen an den Membraneigenschaften angreifen, die dem II. (stationären) Term der

Gleichung zugrundeliegen, verändern wir durch Lokalanaesthetica überwiegend den III. (dynamischen) Term.

Cocain, Tetrodotoxin u.a. verstärken die Selektivität durch vollständige Blockierung des Na^+ -Stromes. Dagegen wird der Selektivitätsmechanismus durch Veratridin ausgeschaltet, so daß Na^+ jetzt - ebenso wie K^+ - stationär durch die Membran fließt (Tab. 2).

Lösung	Membranleitfähigkeit für	
	Na^+	K^+
<u>Veratridin-</u> Ringer	stationär	stationär
Ringer	phasisch	stationär
<u>Cocain-</u> Ringer	blockiert	stationär

Das Membranverhalten geht also auf einen Satz elektrischer Eigenschaften zurück, die wir in einer Gleichung zusammenfassen. Die für die Funktion entscheidende Eigenschaft ist die fallende Charakteristik, die wir stationär mit allen Ladungsträgern, die eine Rolle beim Erregungsablauf spielen, messen können. Aus anderen Experimenten schliessen wir, daß wahrscheinlich auch der zeitabhängige Term eine Konsequenz von permanenten Eigenschaften der Membran ist.

Das große Rätsel sind die molekularen Mechanismen, die den elektrischen Membraneigenschaften zugrunde liegen. Mit chemischen und pharmakologischen Mitteln kann man gezielt in diese Mechanismen eingreifen. Denn durch Orientierung an den gut meßbaren elektrischen Eigenschaften läßt sich der Angriffspunkt einer chemischen Einwirkung funktionell "lokalisieren". So kann man vielleicht durch eine geeignete Beschreibung in Verbindung mit den Methoden der Chemie und Pharmakologie wichtige Aufschlüsse über den zugrundeliegenden molekularen Mechanismus erhalten.

F. Bisherige Kenntnisse der Membranfunktion als Grundlage für die Untersuchung des Membran-Mechanismus

Ebenso wie bei anderen verstärkenden Zweipolen, die wir kennen, gehen die Tatsache, daß eine Verstärkung überhaupt möglich ist, sowie die ausgezeichneten Spannungswerte des einzelnen, dynamisch ablaufenden Verstärkungsvorgangs auch beim Schnürring auf eine stationäre Kennlinie mit negativ-differentiellem Widerstand zurück, die wir, da sie permanent vorhanden und vom speziellen Ladungsträger unabhängig ist, als eine Materialeigenschaft der erregbaren Membran betrachten und, da sie direkt meßbar ist, als solche weiter analysieren können.

Eine stationäre fallende Charakteristik wurde auch an anderen Strukturen gefunden, so am Riesenaxon des Squid (MOORE 1958), an der Herzmuskelfaser (DUDEL, PEPER, TRAUTWEIN 1966), an Nitella (TEORELL 1962) und an der äußeren Haut des Frosches (LINDEMANN). An Nervenzellen konnte mit Sicherheit nur ein instationärer negativer Widerstand nachgewiesen werden (HAGIWARA und SAITO 1959). Ergebnisse stationärer Messungen (LUX und MÜLLER-MOHNSEN 1965) lassen die Möglichkeit offen, daß auch Nervenzellen eine stationäre fallende Charakteristik besitzen, die sich bei dem gewöhnlichen Stand der Meßtechnik lediglich noch dem direkten Nachweis verschließt. Außerdem zeigen sogar künstlich hergestellte Lipoid-Doppelmembranen, an denen sich aktionspotential-ähnliche Impulse auslösen lassen, eine stationäre Kennlinie mit negativem Widerstand (P. MUELLER 1958).

Die stationäre fallende Charakteristik biologischer Membranen verdient, da sie nicht nur eine spezielle Eigenschaft des Schnürrings darstellt, sondern auch an anderen Zellen und sogar an künstlichen Lipoid-Membranen gefunden wird, als allgemeines Funktionsprinzip derartiger Strukturen besondere Beachtung. Insbesondere dürfte der ihr zugrundeliegende molekulare Mechanismus nicht nur für die Biologie, sondern auch für andere Zweige der Naturwissenschaft von Interesse sein.

Nach den dargestellten Ergebnissen kann es als erwiesen gelten, daß die Verstärkerfunktion auf eine stationäre Membraneigenschaft zurückgeht, die in der fallenden Charakteristik zum Ausdruck kommt. Die unter dem funktionellen Aspekt durchgeführten Untersuchungen liefern damit nicht allein eine geschlossene Modellvorstellung, die das formale Verständnis der Membranfunktion erleichtert, sondern zeigen vor allem durch den Nachweis gesetz-

mäßiger Verknüpfungen zwischen dynamischer Funktion und stationären Membraneigenschaften Wege für die weitere Analyse des Membranmechanismus.

Aus den Ergebnissen dieser Arbeit lassen sich für die nächste Zukunft 3 Arbeitsrichtungen begründen: 1. Die elektrophysiologische Analyse der dynamischen Eigenschaften des Schnürrings und deren quantitative Beschreibung durch elektrische Größen. Das Ziel dieser Untersuchungen ist eine quantitative Beschreibung des AP, die von den stationären Eigenschaften der Membran ausgeht, nur direkt meßbare elektrische Größen enthält und in geringerem Maße als die bisher bestehenden Beschreibungen auf eine nachträgliche Anpassung angewiesen ist. Diese Gleichungen werden geprüft, indem sie einem elektronischen Modell als Funktionsschema (Schaltplan) zugrundegelegt werden. Die Funktion dieses durch gemessene Präparateigenschaften begründeten Modells wird mit der Präparatfunktion verglichen. Diese Untersuchungen stehen vor dem Abschluß. 2. Eine weitere Arbeitsrichtung bestünde in der Untersuchung der molekularen Ursachen der den dynamischen Erregungsablauf maßgebend bestimmenden Membraneigenschaften (Gl. 27, III. Term), insbesondere der $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -Selektivität. Die spezifische Beeinflussbarkeit dieses Selektivitätsmechanismus durch Anaesthetica (Cocain etc und Veratridin) zeigt einen Weg für die experimentelle Untersuchung der molekularen Mechanismen.

Die 3. und vordringlichste Arbeit besteht in der Analyse der molekularen Leitfähigkeitsmechanismen, die der stationären Kennlinie zugrunde liegen. Wenn es gelänge, diese physikalisch-chemischen Prozesse aufzuklären, wäre damit der entscheidende Schritt für die Aufklärung des Erregungsmechanismus selbst getan. Momentan stehen die Untersuchungen der Leitfähigkeitsmechanismen erst im Anfangsstadium. Von einer Lösung des Problems sind wir noch weit entfernt. Unsere Kenntnis des stationären Strom-Spannungsverhaltens können wir heute höchstens in - teilweise freilich sehr präzisen - Beschreibungen zusammenfassen. Die bisher durchgeführten Beschreibungen sind phänomenologischer oder thermodynamischer Art, wobei die thermodynamische Beschreibung von TEORELL (1965) bereits eine physikalische Deutung des Mechanismus enthält, deren Gültigkeit jedoch bisher lediglich für Modellexperimente erwiesen ist.

Zu den phänomenologischen Beschreibungen praktischer Art zählen die in dieser Arbeit dargestellten Arbeitsformeln (Gleichung 13-15 und 17). Eine weitere phänomenologische Beschreibung läßt sich aus den dynamischen Grund-

gleichungen der Ionentheorie der Erregung (Gleichung 25) ableiten. Die Lösungsfunktionen dieser Gleichungen werden nur durch ihre Übereinstimmung mit den Meßergebnissen gerechtfertigt. Auf eine physikalische Begründung dieser Gleichungen wird weitgehend verzichtet.

Zu den thermodynamischen Beschreibungen zählt die Theorie von TEORELL (1964). Ausgehend von der Modellvorstellung, daß ein elektroosmotischer Wasserfluß durch Mitführung von Ionen einen elektrischen Strom erzeugen kann, ergänzt TEORELL die NERNST-PLANCKschen Flußgleichungen durch einen Mitführungsterm. Der Wasserfluß verändert außerdem das Konzentrationsprofil des mitgeführten Ions innerhalb der Membran und kann so die elektrische Leitfähigkeit der Membran steuern.

Zusammen mit einem Ansatz über die Spannungs- und Druckabhängigkeit der Strömungsgeschwindigkeit von Wasser gelingt TEORELL die Ableitung von stationären Strom-Spannungs-Kennlinien, die den am Schnürring gemessenen formal ähnlich sind und insbesondere Abschnitte mit differentiell negativem Widerstand besitzen. Erfahrungsgemäß liefert die Integration der NERNST-PLANCKschen Flußgleichungen allein nur Gleichrichter-Kennlinien, so daß die Hinzunahme des Mitführungsterms zur Beschreibung eines negativ-differentiellen Widerstandes notwendig scheint. Der Scharparameter, der die Gleichrichterkennlinie in eine fallende Charakteristik überführt, ist in der Theorie TEORELLs die hydrostatische Druckdifferenz über die Membran. Im Gegensatz dazu ist dieser Parameter in unseren Messungen am Schnürring die isosmotisch veränderte extracelluläre Konzentration eines Ions, für das die Membran stationär eine hohe Leitfähigkeit besitzt.

Dieser Tatsache trägt eine andere, von ALBRECHT-BÜHLER durchgeführte thermodynamische Beschreibung Rechnung. In ihr wird ein Mitführterm von allgemeinerem Charakter, ausgehend von den ONSAGER-Gleichungen unter Hinzunahme eines Ansatzes von KIRKWOOD, theoretisch begründet.

Von keiner der zur Zeit bestehenden Theorien wird bestritten, daß wir von der Kenntnis der Leitfähigkeitsmechanismen, die der stationären Membrankennlinie und damit letztlich der Membranfunktion des Schnürrings zugrundeliegen, noch weit entfernt sind. Die vorliegenden Beschreibungen fassen unsere Kenntnisse der stationären Membraneigenschaften in übersichtlicher Form zusammen. Die in dieser Arbeit beschriebene Meßmethode gestattet es zudem, definierte stationäre Zustände beliebig lange festzuhalten, so daß durch gleichzeitige Anwendung anderer Meßverfahren auch andere als elektrische Eigenschaften des Schnürrings untersucht werden können, die mit den verschiedenen stationären Zuständen verknüpft sind. Feinstruktur- und spektralanalytische Messungen sind vielleicht geeignet, wichtige Unterlagen für eine adäquate, d.h. "molekularbiologische" Deutung des Membranmechanismus zu gewinnen. Wir betrachten daher die in dieser Arbeit dargestellten Beschreibungen und Meßmethoden als Grundlage bzw. experimentelle Hilfsmittel für unser weiteres Studium des Membranmechanismus.

V. Zusammenfassung

Die stationären elektrischen Eigenschaften der erregbaren Membran einzelner Ranvier'scher Schnürringe werden eingehend analysiert und mit den dynamischen Eigenschaften verglichen. Ziel dieser Arbeit ist es, experimentell zu prüfen, ob gesetzmäßige Verknüpfungen zwischen stationären Eigenschaften und dynamisch ablaufender Funktion der erregbaren Membran bestehen.

1. Wird die Membranspannung am Schnürring durch einen Reiz über einen bestimmten Spannungswert (Depolarisationsschwelle) hinaus verschoben, so erfolgt ein regenerativer Spannungsumschlag an der Membran auf einen festen Wert (Spitzenspannung des AP). Während einer stets gleichbleibenden Zeitspanne fällt die Spannung wieder ab, bis eine Repolarisationsschwelle überschritten ist und ein zweiter Spannungssprung die Ruhespannung wiederherstellt. Jeder Schnürring einer Nervenfasern beantwortet folglich einen überschwellig elektrischen Impuls beliebiger Form und Amplitude - sofern dessen Strom eingeprägt ist - mit einem Normimpuls, dem Aktionspotential (AP). Der Energieinhalt der an verschiedenen Schnürringen einer Nervenfasern gemessenen fortgeleiteten AP ist ein fester Wert. Die Funktion des Schnürrings ist daher als digitale Verstärkung gekennzeichnet. Sie wirkt der Dämpfung und Verzerrung des Nervenimpulses in den Internodien entgegen.
2. Da die erregbare Membran nur 2 elektrische "Anschlüsse" besitzt, kann der Schnürring als Zweipol, in Verbindung mit den oben genannten Funktionen insbesondere als aktiver, verstärkender Zweipol betrachtet werden.
3. Seine Funktion "aktiv" und "verstärkend" ist an 2 notwendige Bedingungen geknüpft: a) (aktiv) an die Anwesenheit von Energiequellen und b) (verstärkend) an bestimmte Zweipoleigenschaften der erregbaren Membran, die den Energiefluß aus den Energiequellen derart steuern, daß eine digitale Verstärkung möglich ist. Die vorliegende Arbeit befaßt sich ausschließlich mit diesen letzteren Eigenschaften der Membran, die ihre Funktion bestimmen (funktionelle Betrachtungsweise).
4. Es wird bewiesen, daß die maßgebende Zweipoleigenschaft in einer Strom-Spannungscharakteristik mit einem reellen, von 2 Ästen positiven Widerstandes begrenzten, differentiell negativen Widerstand bestehen muß (fallende Charakteristik). Wegen der z.B. zwischen Schwellen- und Spitzenspannung zu beobachtenden Mehrdeutigkeit der Spannungswerte an der Membran für einen

eingepprägten Stromwert (Spannungsumschlag auf Stromreiz), erwarten wir insbesondere den Typ der fallenden Charakteristik, der nur bei stationär eingepprägter Spannung in allen Punkten eindeutig bestimmt ist (Typ der Tunnel-Dioden-Kennlinie).

5. Eine solche fallende Charakteristik wurde am Schnürring stationär gemessen und zwar unabhängig davon, ob Li^+ , Na^+ , K^+ , Rb^+ oder auch NH_4^+ und $\text{C}(\text{NH}_2)_3^+$ als Ladungsträger dienten. Die Kennlinie ist also nicht an die Anwesenheit der normalerweise vorkommenden Ladungsträger gebunden. Da sie ferner unter stationären Bedingungen und nicht nur beim Ablauf eines Erregungsvorganges nachgewiesen werden kann, ist sie als eine permanent vorhandene Materialeigenschaft der erregbaren Membran des Schnürrings zu betrachten.

6. Im 1. Abschnitt "Ergebnisse" wird die stationäre Kennlinie des Schnürrings eingehend beschrieben.

7. Im 2. Abschnitt "Ergebnisse" wird eine Meßmethode dargestellt, die es gestattet, das dynamische Verhalten in Abhängigkeit von jedem beliebigen, aber streng definierten stationären Ausgangszustand zu untersuchen.

8. Die Experimente zeigen, daß nur dann regenerative Spannungsantworten auslösbar sind, wenn die Membran einen reellen negativen Widerstand besitzt und wenn dieser beim Reizvorgang angesteuert wird. Ferner zeigen die Messungen, daß eine regelmäßige Verknüpfung zwischen folgenden ausgezeichneten Spannungswerten des AP und der stationären Kennlinie besteht: a) zwischen Depolarisationsschwelle des AP und dem Spannungswert des Strom-Minimums der Kennlinie, b) zwischen Repolarisationsschwelle und dem Spannungswert des Strom-Maximums, c) zwischen Spitzenspannung des AP und einem korrespondierenden Spannungswert auf dem niederohmigen Ast der für die phasisch beweglichen Ionen gültigen stationären Kennlinie.

Damit ist experimentell nachgewiesen, daß die für die Verstärkerfunktion eines Zweipols allgemein als physikalisch notwendig erkannten Eigenschaften am Schnürring meßbar sind und auch hier eine notwendige Bedingung für die regenerative Aktivität darstellen. Der mit der Kenntnis dieser Zusammenhänge verbundene Vorteil für die weitere Analyse der Membranfunktion besteht in einer Vereinfachung der quantitativen Beschreibung. Ferner kann die Untersuchung der molekularen Mechanismen bei der Erregung zunächst konzentriert werden auf die Frage nach dem Leitungsmechanismus der stationären Strom-Spannungskennlinie allein.

Literaturverzeichnis

- ADAM, K.R., H. SCHMIDT, R. STÄMPFLI, C. WEISS: The effect of scorpion venom on single myelinated nerve fibres of the frog.
British Journ. of Pharmacol. and Chemothe. 26, 666-677 (1966).
- ALBRECHT-BÜHLER, G.: Die nichtlineare Stromleitung einer lebenden Membran. Messung des Calcium-Einflusses auf das Leitungsverhalten.
Dipl.-Arbeit, Sektion Physik der Universität München (1967).
- ALBRECHT-BÜHLER, G.: Messung des Ca^{++} -Einflusses auf die stationäre Strom-Spannungscharakteristik des Ranvier'schen Schnürrings.
Pflüg. Arch. ges. Physiol. 297 SR 67 (1967).
- ALBRECHT-BÜHLER, G.: Messung des Calcium-Einflusses auf die Strom-Spannungsbeziehung der erregbaren Membran am Ranvierknoten.
Pflüg. Arch. ges. Physiol. 300, 23-34 (1968).
- BALK, O. u. H. MÜLLER-MOHNSEN: Nachweis einer fallenden Charakteristik an Ranvierknoten einzelner Nervenfasern.
Naturwissenschaften 49, 303-304 (1962).
- BALK, O. u. H. MÜLLER-MOHNSEN: Die stationäre Strom-Spannungscharakteristik des Ranvier'schen Schnürrings.
Z. vergleichende Physiol. 52, 56-78 (1966).
- BAKER, P.F., A.L. HODGKIN and T.I. SHAW: Replacement of the axoplasm of giant nerve fibres with artificial solutions.
J. Physiol. (Lond.) 164, 330-354 (1962).
- DODGE, F.A. and B. FRANKENHAEUSER: Membrane currents in frog nerve fibre under voltage clamp conditions.
J. Physiol. (Lond.) 143, 76-90 (1958).
- DUDEL, J., K. PEPPER and W. TRAUTWEIN: The contribution of Ca^{++} -Ions to the current-voltage relation in Cardiac Muscle.
Pflüg. Arch. ges. Physiol. 288, 262-281 (1966).
- FLICK, H.: Die Wirkung erhöhter Natrium-Außenkonzentration auf das Ruhe- und Aktionspotential markhaltiger Nervenfasern.
Pflüg. Arch. ges. Physiol. 284, 201-212 (1965).

- FRANKENHAEUSER, B.: Delayed currents in myelinated nerve fibres of *Xenopus Laevis*. *J. Physiol. (Lond.)* 160, 40-45 (1962).
- FRANKENHAEUSER, B. and A.F. HUXLEY: The action potential in the myelinated nerve fibre of *Xenopus Laevis* as computed on the base of voltage clamp data. *J. Physiol. (Lond.)* 171, 302-315 (1964).
- GALVANI, A.: *De viribus electricitatis, Mutinae 1792* (Faksimile ed. Berlin, 1925).
- HAGIWARA, S.: Current-voltage relations of nerve cell membrane pp 145-157 in KATSUKI, Y. (ed.) *electrical activity of single cells*. Tokyo Ihaki Shoin (1960).
- HAGIWARA, S. and N. SAITO: Voltage-current relations in nerve cell membrane of *Onchidium verruculatum*. *J. Physiol. (Lond.)* 148, 161-179 (1959).
- HEENE, R.: Das Aktionspotential des isolierten Ranvier'schen Schnürrings bei Erhöhung der extracellulären Wasserstoffionenkonzentration in calciumhaltigen und calciumarmen Lösungen. *Pflüg. Arch. ges. Physiol.* 275, 1-11 (1962).
- HODGKIN, A.L.: The ionic base of electrical activity in nerve and muscle. *Biol. Reviews* 26, 339-409 (1951).
- HODGKIN, A.L., A.F. HUXLEY and B. KATZ: Ionic currents underlying activity in the giant axon of the squid. *Arch. Sci. physiol.* 3, 129-150 (1949).
- HODGKIN, A.L., A.F. HUXLEY and B. KATZ: Measurement of current-voltage relations in the membrane of the giant axon of *Loligo*. *J. Physiol. (Lond.)* 116, 424-448 (1952).
- HODGKIN, A.L. and A.F. HUXLEY: A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J. Physiol.* 117, 500-544 (1952).
- HUXLEY, A.F.: Excitation and conduction in nerve: Quantitative analysis. *Science (Lond.)* 145, 1154-1159 (1964).
- HUXLEY, A.F. and R. STÄMPFLI: Direct determination of membrane resting potential and action potential in single myelinated nerve fibres. *J. Physiol. (Lond.)* 112, 476-495 (1951).

- HUTTON-RUDOLPH, M.: Photochemische Versuche an einzelnen Nervenfasern. Diss. Hallerianum Bern 1944, zit. nach STÄMPFLI 1952.
- KATO, G.: Microphysiology of nerve, Tokyo 1934.
- LINDEMANN, B.: Die gipfförmige potentiostatisch gemessene stationäre Na^+ -Kennlinie (in Vorbereitung).
- LINDEMANN, B.: The fast potential spike of frog skin is generated at the outer surface of the epithelium (in Vorbereitung).
- LUX, H.D. und H. MÜLLER-MOHNSEN: Über die stationäre Strom-Spannungs-Charakteristik einzelner motorischer Ganglienzellen des Blutegels. Pflüg. Arch. ges. Physiol. 285, 287-295 (1965).
- MARCH, A.: Die physikalische Erkenntnis und ihre Grenzen. Braunschweig 1960.
- MARMONT, G.: J. cellular comp. Physiol. 34, 351 (1949) (zit. nach HUXLEY, 1964).
- MEVES, H.: Zur Wirkung hypertoner Lösungen auf die markhaltige Nervenfasern. Experientia (Basel) 20, 31 (1964).
- MOORE, J.W.: Excitation of the Squid axon Membrane in isosmotic Potassium chloride. Nature (Lond.) 183, 265-266 (1959).
- MUELLER, P., D.O. RUDIN, H.T. TIEN, W.C. WESCOTT: Reconstitution of excitable cell membrane structure in vitro. Circulation 26, 1167-1171 (1962).
- MÜLLER-MOHNSEN, H. und O. BALK: Über eine Beziehung zwischen stationären Eigenschaften und Funktion des Ranvierknotens. Z. Biophysik 2, 212-216 (1965).
- MÜLLER-MOHNSEN, H. und O. BALK: Stationäre Kennlinie und Funktion erregbarer Membranen. Zschr. Vergleichende Physiol. 52, 56-78 (1966).
- MÜLLER-MOHNSEN, H. und O. BALK: Relations between stationary and dynamic properties of the axon membrane. Nature 207, 1255-1257 (1965).
- MÜLLER-MOHNSEN, H. und O. BALK: Zur Entstehung des K^+ -Aktionspotentials. Naturwissenschaften 53, 130-131 (1966).

- MÜLLER-MOHNSEN, H. und O. BALK: Über einen Isotopie-Effekt des Wassers bei den stationären elektrischen Eigenschaften des Ranvier'schen Schnürrings. *Pflüg. Arch. ges. Physiol.* 297 SR 68 (1967).
- OBERDORFER, G.: Lehrbuch der Elektrotechnik Band II, Rechenverfahren und allgemeine Theorien der Elektrotechnik, München (1949).
- SCHMIDT, H.: Die Abhängigkeit des Ruhepotentials markhaltiger Nervenfasern vom Elektrolytgehalt der Außenflüssigkeit. *Annales Universitatis Saraviensis* 11, 1-69 (1964).
- SHANES, A.M.: Electrochemical aspects of physiological and pharmacological action in excitable cells. *Pharmacol. Rev.* 10, 165-271 (1958).
- STÄMPFLI, R.: Untersuchungen an der einzelnen lebenden Nervenfasern des Frosches. *Helvet. Physiol. Acta* 4, 411 (1946).
- STÄMPFLI, R.: Bau und Funktion isolierter markhaltiger Nervenfasern. 47, 70-165 (1952).
- STÄMPFLI, R.: Saltatory conduction in Nerve. *Physiol. Reviews* 34, 101-112 (1954).
- STÄMPFLI, R.: Influence de solutions aniso-osmotiques sur le potentiels de membrane et le courants d'action de fibres nerveuses myelinisees. *Coll. Intern. C.N.R.S.* 67, 159 (1955).
- STÄMPFLI, R.: Nouvelle methode pour enregistrer le potentiel d'action d'un seul etrangement de Ranvier et la modification par un brusque changement de la concentration du milieu exterieur. *J. Physiol. Paris* 48, 710-714 (1956).
- STÄMPFLI, R. and M. WILLI: Membrane Potential of a Ranvier Node measured after electrical destruction of its membrane. *Experientia Basel* 13, 297-301 (1957).
- STÄMPFLI, R.: Die Strom-Spannungscharakteristik der erregbaren Membran eines einzelnen Schnürrings und ihre Abhängigkeit von der Ionenkonzentration. *Helv. physiol. pharmacol. Acta* 16, 127-145 (1958).

- STÄMPFLI, R.: Effects of external K^+ -concentration on nodal membrane potential under various experimental conditions.
Proc. int. Physiol. Sci. XXII Int. Congr. 1962, p. 574-576.
- STANEK, F.W. und ALBRECHT-BÜHLER, G.: Zusammenhänge zwischen den Reizantworten und der Strom-Spannungscharakteristik der erregbaren Membran am Ranvierschen Schnürring.
Pflüg. Arch. ges. Physiol. (in Vorbereitung).
- STRAUB, R.: Die Wirkung von Veratridin und Ionen auf das Ruhepotential markhaltiger Nervenfasern des Frosches.
Helv. Physiol. Acta 14, 1-28 (1956).
- TASAKI, I.: Electric stimulation and the excitatory process in the nerve fibre. Amer. J. Physiol. 125, 380 (1939), zit. nach STÄMPFLI 1952.
- TASAKI, I. and A.F. BAK: Current-voltage relations of single nodes of Ranvier as examined by voltage-clamp technique.
J. Neurophysiol. 21, 124-137 (1959).
- TASAKI, I. and C.S. SPYROPOULOS: Nonuniform response in the Squid axon membrane under voltage-clamp.
Amer. J. Physiol. 193, 309-317 (1958).
- TASAKI, I. and C.S. SPYROPOULOS: Membrane conductance and current-voltage relations in the Squid axon under "voltage-clamp".
Amer. J. Physiol. 193, 318-327 (1958).
- THEORELL, T.: Oscillatory electrophoreses in ion exchange membranes.
Arkiv Kemi 18, 401-408 (1961).
- WESTPHAL: Physikalisches Wörterbuch
Berlin, Göttingen, Heidelberg 1952.

Dankadresse

Der Gesellschaft für Strahlenforschung m.b.H., die alle Mittel für die in dieser Arbeit dargestellten Untersuchungen zur Verfügung stellte und besonders dem Leiter des Instituts für Biologie, Herrn Prof. Dr. O. Hug, der die Arbeiten jederzeit verständnisvoll unterstützte, bin ich zu Dank verpflichtet.

Die Untersuchungen wurden 1960 begonnen und von Anfang an in Zusammenarbeit mit Herrn Dipl.-Phys. O. Balk durchgeführt. Seit 1966 arbeiten außerdem Herr Dipl.-Phys. Albrecht-Bühler und vorübergehend auch Herr Dr. Ing. Stanek mit. Die dadurch stark belebte Diskussion führte zu einem lebhafteren Fortgang der Arbeiten nicht nur am Meßobjekt, sondern auch an diesem Manuskript. Frau Laufer hat für die Vorlagen der Abbildungen und für die Korrekturen Sorge getragen. Allen diesen Kollegen danke ich herzlich.

Lebenslauf

Am 7. März 1928 wurde ich in Bremen geboren. Im November 1956 heiratete ich und habe jetzt 4 Kinder.

Schulausbildung:

Im Anschluß an eine 4-jährige Volksschulzeit in Bremen und Berlin ging ich für 1 Jahr in ein Realgymnasium (Bremen). Die übrige Schulzeit verbrachte ich im Landschulheim (Odenwaldschule, Oberhambach bei Heppenheim).

Hochschulausbildung:

Nach 1 1/2-jährigem Wehrdienst als Flakhelfer begann ich mein Medizinstudium in Marburg-Lahn; 1951: Medizinisches Staatsexamen; Anfang 1952: Promotion über das Thema "Herzschlagvolumen und -Minutenvolumen unter der Geburt".

Wissenschaftliche Tätigkeit:

Nach Abschluß der Pflichtassistentenzeit im November 1953 arbeitete ich 3 Jahre bei Herrn Professor Giese, davon 1 Jahr im Pathologischen Institut der Städt. Krankenanstalten in Bremen und 2 Jahre im Pathologischen Institut der Universität Münster-Westf. In dieser Zeit beschäftigte ich mich mit der Systematik und der Entstehungsweise von interarteriellen Kollateralkreisläufen bei Coronarsklerose und vor allem mit der Ätiologie der Coronarsklerose. Hydrodynamische Modellexperimente ergaben, daß die Bauabschnitte des Coronargefäßsystems, in denen keine achsenparallele Laminarströmung stattfindet, Praedilektionsorte der Coronarsklerose sind.

Von September 1956 bis 31. Oktober 1959 arbeitete ich bei Herrn Prof. STÄMPFLI im Physiologischen Institut der Universität des Saarlandes. Dort untersuchte ich lichtmikroskopisch einzelne Ranvier'sche Schnürringe während des elektrophysiologischen Experiments. Ich versuchte, eine morphologisch begründete Erklärung für die Permeabilitätsänderungen der erregbaren Membran zu finden, die zum Aktionspotential führen und zu den Wirkungen einer veränderten Umgebung (z.B. Elektrotonus, physikalisch-chemische und pharmakologische Einwirkungen). Diese Untersuchungen und getrennt davon durchgeführte kolloidchemische Experimente ergaben, daß eine Zunahme der

Membranleitfähigkeit mit einer Wassereinlagerung, eine Leitfähigkeitsabnahme dagegen mit einer Wasserabgabe der submikroskopischen Strukturen des Schnürrings verbunden ist.

Seit November 1959 arbeite ich im Institut für Biologie der Gesellschaft für Strahlenforschung m.b.H. in Neuherberg (München) bei Herrn Prof. O. HUG. Hier experimentiere ich seither überwiegend elektrophysiologisch an einzelnen Nervenfasern und -zellen um die physikalischen Gesetzmässigkeiten der Membranfunktion zu analysieren. Das Ziel ist zunächst eine geschlossene Beschreibung der Verstärkertätigkeit erregbarer Membranen als Folge einer elektrophysikalischen Struktur.

Die bisherigen Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in der vorliegenden Arbeit dargestellt.

